ATP MATIÈRES ORGANIQUES DANS LES SOLS

Caractérisation Structurale
Apports de la Spectrométrie RMN^{13}C du Solide

NANSÉ G.

E.N.S.C.Mu Laboratoire de Spectroscopie Électronique
O.R.S.T.O.M.

1986

- SOMMAIRE -

I. Introduction (Echantillons étudiés - Schéma des Méthodes de Fractionnement mises en oeuvre - Composition élémentaire des différentes fractions
p. 1 à 6

II. Exploitation qualitative des Spectres - Déplacement chimique
- Individualisation et Assignation des différents Domaines spectraux
- Informations complémentaires que peut fournir le déphasage dipolaire
p. 7 à 13

III. Exploitation quantitative des Spectres
- Facteurs conditionnant la quantitativité des mesures en RMN ^{13}C du solide
- Détermination des conditions expérimentales optimales dans le cadre des échantillons de sols. Expériences de "Polarisation partielle"
p. 43 à 59

IV. Résultats
- Nature des Informations que peut fournir la Spectrométrie RMN ^{13}C du Solide dans le Domaine de l'Etude de la Matière Organique des Sols
- Premières tendances qui se dégagent de l'analyse comparative des différents Spectres
p. 60 à 63

V. Analyse détaillée des spectres des différentes fonctions - Interprétations
A - Humines non Fractionnées - Sol entier - Matière organique Fraîche
p. 64 à 92 (Résumé p. 85-89)
B - Fractions "solubles" - Acides Humiques
- Différences structurales entre Acides Humiques des extraits au pyrophosphate de Na et des extraits sodiques
p. 93 à 106 (Résumé p. 104-106)
C - Fractions de l'Humine
I. Extraction par l'eau à haute température - Hydrolyse HCl à chaud
a) Constitutants extraits par l'eau à 70-75°C : p.107 à 116
b) Hydrolyse acide à chaud - Effets du traitement p. 117 à 135 (Résumé p. 129-135)
II. Humine de précipitation
p. 136 à 164 (Résumé p. 158-164)
III. Humine résiduelle
a) globale p. 165 à 180
b) Fractions de l'Humine résiduelle p. 181 à 198 (Résumé p.199-204)

Apports de la Spectrométrie RMN ^{13}C du solide dans l'étude de la matière organique des Sols

I. Caractérisation structurale des différentes fractions de l'Humine

Introduction

La matière organique des sols est une entité hétérogène et complexe regroupant des constituants d'origines, de natures et de degrés d'organisation morphologique et structurale très variés.

- constituants non humiques

+ Eléments figurés provenant de la division mécanique des débris animaux et végétaux, dont la composition chimique peut-être modifiée en partie mais qui conservent encore, à l'échelle macroscopique une organisation structurale rappelant celle du matériaux primaire dont ils dérivent (Matières organiques fraiches)
+ composés chimiques solubles ou insolubles provenant de la biodégradation des matières organiques fraiches (cellulose, hémicellulose, oligosacharides, sucres, amino sucres, protéïnes, polypeptides, acides aminés, lignines composés phénoliques ...)

- constituants humiques

+ composés néoformés par insolubilisation et polycondensation à partir des précurseurs précédents et qui peuvent atteindre des poids moléculaires et des degrés de complexité très variables.
+ matériaux synthétisés par la biomasse microbienne

Ces différents constituants sont liés entre eux et à la composante minérale (sesquihydroxydes, argiles). Les liaisons organominérales pouvant aller de la forme saline aisément dissociable, à la forme chelate la plus stable.

Des méthodes d'extraction et de fractionnement ont été proposées pour essayer, dans un premier temps, de séparer et, si possible, solubiliser ces constituants.

Classiquement on différentie ainsi trois grandes catégories de composants

+ Les Acides humiques et Fulviques extractibles par les réactifs alcalins (NaOH) ou alcalins et complexants (pyrophosphate de Na). Les acides humiques se différentiant de leur homologues fulviques par le fait qu'ils reprécipitent en milieu acide.
+ L'Humine, fraction complexe qui regroupe l'ensemble des constituants non directement extractibles par ces réactifs

Acides Humiques et Fulviques et Humine ne correspondent pas à des entités caractérisés par un composition élémentaire et structurale et des propriétés définies. Ce sont des sous ensembles conventionnels qui se différentient fondamentalement en fonction de leur solubilité ou insolubilité dans certains réactifs, c'est-à-dire, par leurs comportements.

Jusqu'à un passé récent l'essentiel des informations concernant la structure et la composition radicalaire de ces fractions ont été obtenues dans le cadre des méthodes classiques de l'analyse fonctionnelle par voie humide et en mettant en œuvre des techniques de dégradation chimique (Hydrolyses acides, dégradations oxydatives ou réductrices et pyrolitiques.

Ces études ont, en priorité, portées sur les fractions "solubles" -Acides Humiques et Fulviques.

Compte tenu du caractère drastique des traitements chimiques mis en œuvre, la validité des modèles structuraux élaborés à partir des données ainsi obtenues est de plus en plus mise en question [1,2,3,4,5,6,7].

Les techniques spectrométriques - Spectrométrie IR conventionnelle, Résonnance paramagnétique électronique, Résonance magnétique nucléaire - n'ont longtemps apporté que des informations limitées, d'ordre essentiellement indicatif et comparatif.

Dans le cas de la RMN, l'apparition d'aimants supraconducteurs à haut champ et surtout le développement, depuis un peu plus d'une décenie, de la Spectrométrie d'impulsion à transformée de Fourrier, qui permettent d'obtenir des spectres RMN à haute résolutions à partir de matériaux complexes, de poids moléculaire élevé et faible teneur en ^{13}C, a ouvert des perspectives fondamentalement nouvelles.

Les premiers résultats marquants ont d'abord été obtenus à partir des fractions "solubles" par RMN^{13}C conventionnelle-acides humiques et fulviques de sols [4,8,9,10,11,12,13, 14,15,16,17,18] et de sédiments marins [9,14,19].-

Le développement des techniques de découplage et de polarisation croisée (DPC) et la rotation à l'angle magique (RAM), qui permettent, à partir d'échantillons solides, d'obtenir des spectres présentant une résolution comparable à ceux quefournit la RMN^{13}C conventionnelle dans le cas des échantillons liquides, a constitué un nouveau pas en avant, de portée déterminante dans le domaine qui nous intéresse.

La RMN^{13}C - DPC - RAM a été appliquée aussi bien à des échantillons de sol entier n'ayant subi aucun traitement préalable [20,21,22,23,24,25] qu'aux fractions conventionnelles -Acides Humiques et Fulviques [23,24,26,27] Humines [23,26].

Dans le cas de l'Humine, comme dans le cas du sol entier, c'est en fait une image de la composition fonctionnelle globale du mátériaux organique qu'on obtient ainsi.

Cette image est loin de refleter l'hétérogéneïté et la vraie complexité de cette fraction.

Il existe plusieurs formes d'Humines de composition chimique et structurale, de natures et d'origines très différentes [28]. L'importance relative de chacune de ces formes dans le "résidu non extractible" peut varier considérablement d'un sol à l'autre [29].

Une méthode de fractionnement a été mise au point pour essayer de séparer ces diverses composantes et être en mesure ainsi de fournir une image plus détaillée et plus précise de la composition et de la structure de l'Humine.

Pour tester la validité de cette approche il convenait

1. de déterminer la composition radicalaire (taux d'aromaticité, nature et importances relatives des groupements oxycarbonés et azotés) de chacune des fractions ainsi obtenues et d'établir si elle diffère significativement d'une fraction à l'autre
2. de préciser quel est l'effet des différents traitements mis en œuvre et de vérifier s'ils ne modifient pas de façon drastique la structure des divers constituants.

Nous présentons ici les premiers résultats qui ont pu être obtenus par Spectrométrie RMN ^{13}C - DPC - RAM, ce qui permettra de souligner l'intérêt et la portée des informations que peut apporter cette technique dans le domaine de l'étude chimique et structurale de la matière organique des sols et sédiments.

Matériel - Méthodes

Les échantillons étudiés proviennent de trois types de sols différents

+ Un sol Andique profond sur limon à blocs de Rhyodacite développé sous forêt de résineux à moyenne altitude (787 m) -
+ Un horizon A_1 de Podzol humo férrigineux sur grés vosgien très quartzeux développé sous forêt de résineux à moyenne altitude (40 à 500 m)
+ Un horizon A_1 de Rendzine

Dans le premier cas nous sommes partis du sol entier (fraction inférieure à 2m séchée à l'air)

Après séparation préalable des matières organiques légères (par H_3PO_4 2M) l'extraction des fractions "solubles" est éffectuée en traitant l'échantillon successivement, et chaque fois à "épuisement", par une solution de pyrophosphate de Na 0,1M puis par NaOH 0.1 N (méthode ORSTOM).

Dans le cas du Podzol et de la Rendzine nous sommes partis de l'Humine (fraction < 50 µ). Le fractionnement physique et l'extraction préalable des acides humiques et fulviques (par NaOH 0,1N à pH 12) ayant été réalisé par ailleurs (échantillons provenant de la collection d'humines des CPB NANCY)

+ Méthode de fractionnement de l'humine : Elle met en œuvre successivement

α Une séquence de traitements chimiques acides et alcalins qui permettent de dissocier les microagrégats organo-minéraux et de séparer deux sous ensembles

+ L'Humine de précipitation formée de constituants encore peptisables mais qui ne deviennent extractibles par NaOH 0,1N qu'après destruction des sesquihydroxydes et des minéraux phylliteux auxquels ils sont liés ou qui les masquent (coating)
+ L'Humine résiduelle qui regroupe l'ensemble des constituants effectivement insolubles dans les réactifs minéraux

β Un fractionnement physique de ce résidu en fonction de la taille et de la densité des particules (par tamisage, sédimentation lente puis ultracentrifugation)

REMARQUE : Généralement le fractionnement physique précède les extration chimiques.

Il permet de séparer les matières organiques légères et les minéraux grossiers non liés (et d'obtenir ainsi des échantillons relativement plus riches en matière organique)

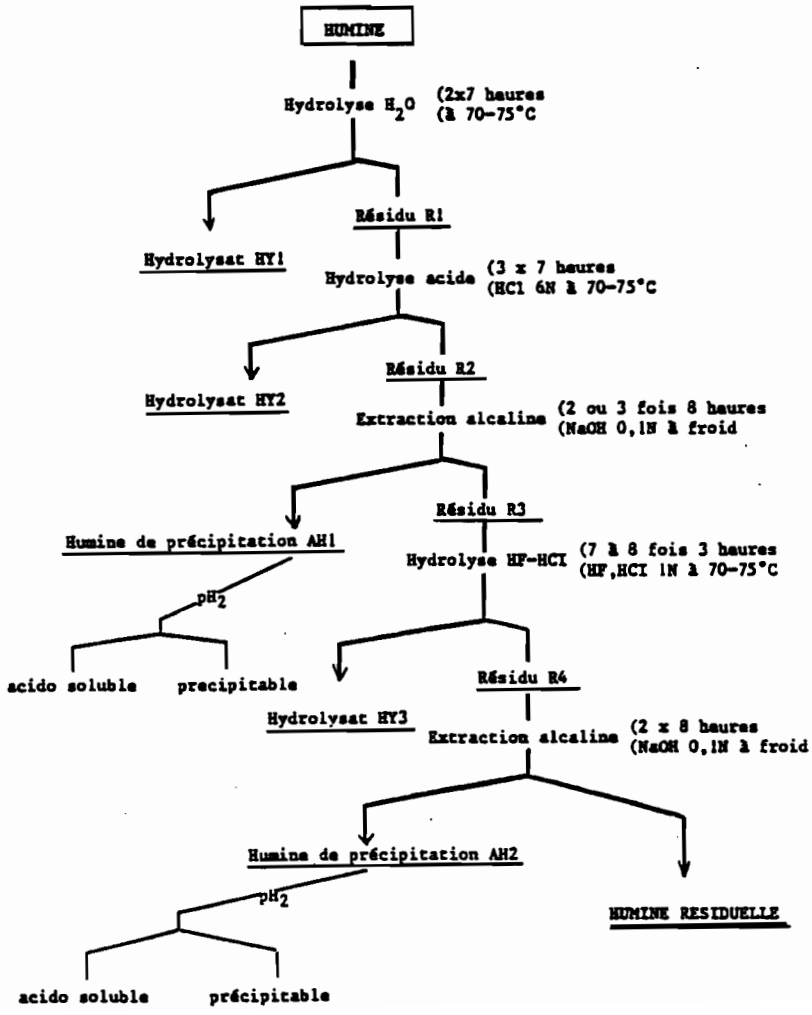
Il est évident que les traitements purement mécaniques qu'il met en œuvre, y compris ceux qui font intervenir les ultrasons, ne sont pas en mesure de rompre les liaisons organo minérales particulièrement energiques qui contribuent à la cimentation des microagrégats.

Dans les fractions de la taille des limons et des sables (> 5μ) la composition granulométrique, et, portant, la nature et le taux d'humification du matériaux organique doivent encore être très hétérogènes

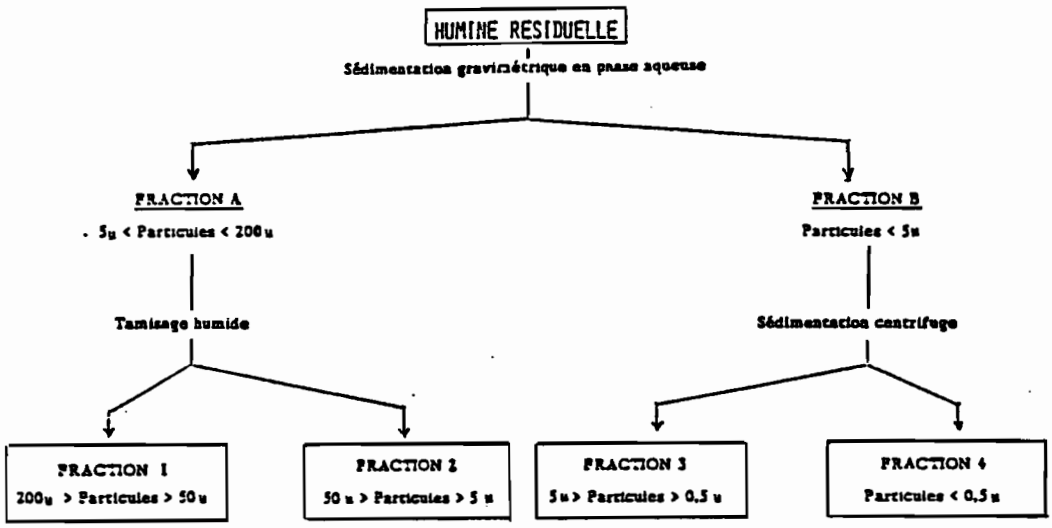
Un fractionnement physique de l'humine résiduelle dans laquelle constituants organiques et minéraux ne présentent pratiquement plus aucune liaisons entre eux devrait donc apporter de nouveaux compléments d'informations

La succession des opérations de fractionnement est schématisée sur les organigrammes T I et II

T I SCHEMA DE FRACTIONNEMENT CHIMIQUE DE L'HUMINE



T II FRACTIONNNEMENT PHYSIQUE DE L'HUMINE RESIDUELLE



Les extraits alcalins (MTH_1 , MTH_2) qu'on sépare successivement après hydrolyse HCl et HF - HCl sont acidifiés jusqu'à pH2 (addition de HC12N).

La fraction qui précipite en milieu acide est purifiée par peptisations reprecipitations successives puis dialysée contre eau distillée avant lyophilisation.

La fraction acido soluble est neutralisée (addition de NaOH jusqu'à pH 8,3 - 8,4). Le précipité qui apparaît, dans certains cas est séparé par centrifugation. Surnageant et culot (redispersé dans de l'eau distillée) sont ensuite dialysés contre eau distillée puis lyophilisés.

Dans le cas du Podzol et de la Rendzine, après chaque traitement, les différents extraits obtenus ainsi que le résidu d'attaque ont été récupérés quantitativement. En comparant leurs compositions radicalaires à celle du matériau de départ (fraction avant traitement) c.à.d en établissant des "bilans fonctionnels" nous essayerons de mieux préciser l'effet de ces traitements.

NB : Pour ces deux sols, au moment où les spectres RMN ont été relevés nous ne disposions pas encore de la totalité des fractions.

- La composition élémentaire (C, N et , dans les échantillons à faible teneur en constituants inorganiques 0 et H) des différentes fractions étudiées est donnée dans les tableaux TI et T II

T 1

		C %	N %	C/N	0 %	O/C	H %	H/C	Cendres
PODZOL	Humine	20,49	0,86	23,70					67
	Résidu après Hydrolyse H_2O	19,80	0,84	23,62					62
	Hydrolysat H_2O	36,1	1,67	23,14	35,16	0,68	3,28	1,01	
	Résidu après Hydrolyse HCl	19,4	0,47	41,00					73
	Humine de précipitation AH1	57,07	3,25	17,74	35,87	0,47	4,39	0,92	
	Résidu après séparation de AH1	13,43	0,26	52,32					79,27
RENDZINE	Humine	6,28	0,58	10,82					87,78
	Hydrolysat. H_2O	34,21	2,78	12,29	37,52	0,82	2,05	0,72	
	Résidu après Hyd. H_2O et HCl	4,05	0,24	16,62					26,70
	Humine de précipitation AH1	46,51	3,37	13,78	36,32	0,58	4,61	1,19	
	Résidu de purif. AH1	8,31	0,74	11,19					
	Résidu après séparartion de AH1	2,49	0,10	24,9					93,21

T II

Sol Andique

Niveau 0 - 5 cm

Prélèvement 0 - 5 cm	C %	N %	C/N	O %	O/C	H	H/C	Cendres
Sol départ	27,10	1,89	14,34					
Matières Organ. Légères	51,03	2,38	21,44	29,56	0,44	5,79	1,38	12,41
Acides Humiques Pyro	55,21	3,88	14,24	34,58	0,47	3,44	0,75	1,65
Acides Humiques NaOH	53,59	4,42	12,15	30,34	0,43	5,07	1,13	2,82
Humine	14,64	0,77	18,96					
Humine de précipitation AH1	59,50	3,00	19,83	29,70	0,38	4,29	0,86	1,00
Humine de précipitation AH2	59,38	2,23	26,63	31,46	0,40	4,25	0,86	0,85
Humine résiduelle	28,86	0,53	54,86					59,37
Fraction > 50 µ	7,68	0,12	65,03					
Fraction 50 > > 5 µ	22,04	0,35	62,97					
Fraction 5µ > > 0,5 µ	56,99	1,07	53,22					
Fraction < 0,5 µ	34,08	1,26	21,10					

Niveau 15 - 25 cm

Prélèvement 15 - 25 cm								
Sol de départ	12,65	0,77	16,43					
Matières Organ. légères	55,49	1,39	39,92	27,40	0,37	4,50	0,97	10,47
Acides Humiques PYro	57,11	3,89	14,68	29,69	0,39	3,33	0,70	3,50
Acides Humiques NaOH	55,46	4,73	11,73	27,17	0,37	5,29	1,15	4,62
Humine	11,45	0,47	24,36					
Humine de précipitation AH1	67,64	2,18	31,03	18,93	0,28	3,58	0,64	1,00
Humine de précipitation AH2	69,24	1,90	36,34	15,92	0,23	3,92	0,68	1,20
Humine résiduelle	25,30	0,48		53,93				60,29
Fraction > 50 µ	7,69	0,13		58,38				
Fraction 50µ > > 5 µ	10,33	0,16		61,8				
Fraction 5µ > > 0,5 µ	50,41	7,09		53,55				
Fraction < 0,5 µ	28,22	0,94		29,93				

C/N Rapport pondéral

O/C et H/C Rapports en équivalents Atome gramme

- Les distributions du carbone et de l'azote entre les différentes fractions obtenues à partir des deux échantillons du sol Andique, du Podzol et de la Rendzine sont données en annexe.

+ Appareillage et conditons d'étalonnage

Une partie des spectres ont été obtenus avec un Spectromètre CXP-100 BRUCKER l'autre avec un CXP-90

Dans les deux cas on a utilisé un rotor en nitrure de Bore. Les spectres sont donc exempts de raies parasites dûes au matériau du porte échantillon

Dans un cas (CXP-100) la vitesse de rotation du rotor était de 3,6 kHz dans l'autre (CXP-90), elle se situait entre 2 et 3 kHz

La condition de Hartman-Hahn - $Y_C \cdot H_{1C} = Y_H \cdot H_{1H}$ (où Y_C et Y_H représentent les rapports gyromagnétiques des ^{13}C et des protons, H_{1C} et H_{1H} les intensités respectives des champs rf à la fréquence du ^{13}C et des protons) a été établie en régime stationnaire en utilisant comme matériau de référence l'Adamantane.

Les déplacements chimiques (en régime tournant sont mesurés par rapport à l'Adamantane On a utilisé en moyenne entre 300 et 400 mg d'échantillon finement broyé.

Exploitation qualitative des spectres - Déplacement chimique

La fréquence de résonance d'un noyau peut varier légèrement en fonction de l'environnement chimique dans lequel il se trouve placé.

C'est ce "déplacement chimique", manifestations de l'effet d'écran qu'exercent les électrons périphériques (vis à vis du champ externe) et qui n'est que l'un des aspects des interactions fines que permet d'étudier la Spectrométrie RMN, que nous exploitons ici.

Compte tenu du grand nombre de groupements carbonés présents dans nos échantillons et de la diversité des configurations dont peut participer un groupement donné, on a une distribution quasi continue de déplacements chimiques.

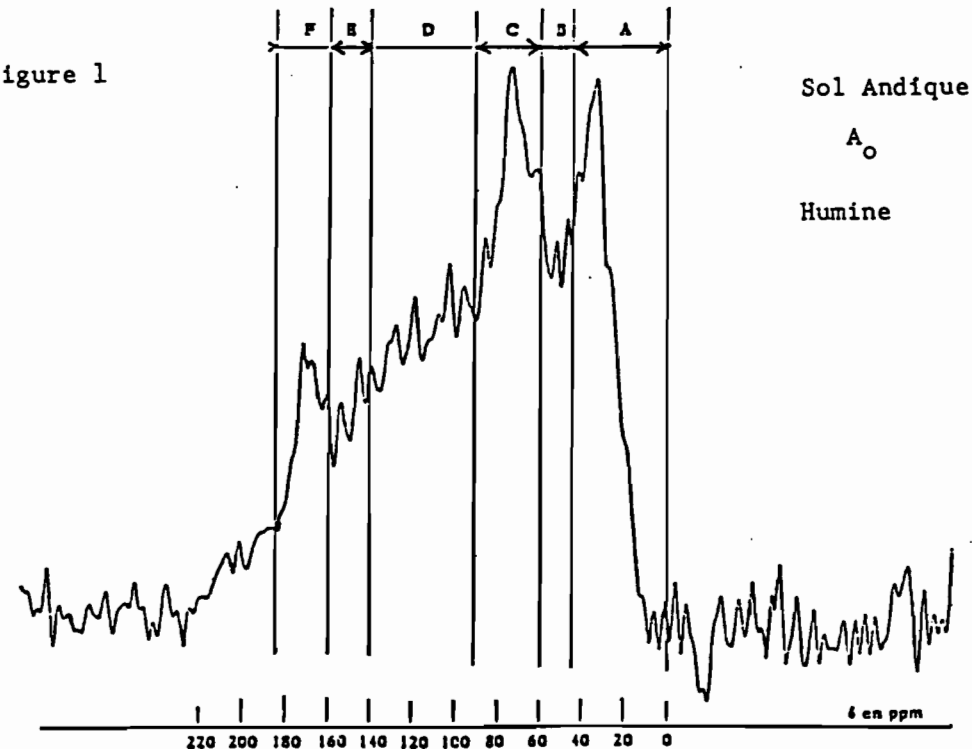
Le spectre ne se résout pas en bandes bien définies, nettement séparées les unes des autres mais est constitué d'une succession de massifs de résonances, aux limites mal définies qui s'étalent sur des plages de fréquences relativement larges. (Figure 1)

a - Dans un premier temps nous le scindons en six domaines.

— A:de 0 à 45 ppm : Dans cette plage de fréquence apparait l'essentiel des raies de résonance des "carbones sp^3 non hétésosubstitués"

+ - CH_2- des chaines alkyliques $-(CH_2)_n-$.
+ $>$CH- des structures aliphatiques ramifiées et -CH- des isoprenoïdes
+ - CH_2- et $>$ CH- alycycliques
+ groupements méthyle terminaux ou en iso des chaines alkyliques
+ groupements méthyle portés par un noyau aromatique, $-CH_3$ des groupements acétate.

Figure 1



- B:de 45 à 60 ppm : Dans cette zone s'individualisent les bandes des carbones sp^3
  - des groupements aminés (acides aminés, polypeptides)
  - des groupements $-OCH_3$ (caractéristiques deslignines et des hémicelluloses)
  - de certains carbones quaternaires
- C:de 60 à 92 ppm : C'est le domaine où apparaissent les bandes correspondant aux carbones sp^3 des groupements oxycarbonés autres que carbonyles.
  - groupement ethers, alcools et esters
  - groupements $-CH_2OH$ et CHOH des carbohydrates (cellulose, hémicelluloses et produits de dégradation)
- D:de 92 à 140 ppm : Dans cette zone apparaissent les bandes de résonance des carbones sp^2 non hétérosubstitués.
  + noyaux aromatiques, polyaromatiques et hydroaromatiques,
  + alcènes et terpenoïdes
  + hétérocycles.

  Entre 92 et 115 ppm aux signaux des carbones sp^2 se superposent ceux des carbones sp^3 anomériques (carbohydrates) et des groupements acétals.
- E:de 140 à 160 ppm : Dans ce domaine on trouve les bandes correspondant aux carbones sp^2 oxygénés (phénols, aryl-ethers) et azotés
- F:de 160 à 185 ppm : C'est le domaine de résonance des groupements carbonyle participant d'acides carboxyliques, carboxylates, esters, amides, quinones.

— Les limites des différents domaines ne sont pas toujours marquées sur les spectres par des inflexions nettes, et, à plus forte raison, par un retour à la ligne de base.

Elles ont été définies en se référant aux tables de corrélation qui situent les plages de fréquences à l'intérieur desquelles résonnent les différents types de groupements.

- Des bandes correspondant à des groupements fondamentalement différents peuvent contribuer au même massif de résonance sans qu'il soit toujours possible de faire la part de ces différentes contributions.

C'est particulièrement le cas dans les domaines B (45 à 60 ppm) et C (60 à 92 ppm).

- Suivant l'environnement chimique dans lequel il se trouve placé, les raies de résonance d'un groupement propre à un domaine donné peuvent être déplacées de telle façon qu'elles se superposent à celles des groupements caractéristiques du domaine voisin.

Ainsi des bandes correspondant à des carbones sp^3 protonés peuvent contribuer au massif de résonance que nous associons aux Csp^3 des groupements aminés (cas des $-CH_2-$ en α d'un carbone sp^2 et adjacent à un groupement methine, des CH- pontants entre noyaux aromatiques, de certains CH- alycycliques).

b - Dans chacun de ces domaines des groupes de signaux plus intenses, centrés autour de valeur de δ définies, se différentient du massif de résonances sous forme de bandes, maximas ou épaulements plus ou moins marqués.

Sur l'ensemble des spectres, obtenus avec deux appareils différents (CXP 90 et CXP 100 Bruker) on retrouve la même succession de bandes et d'épaulements caractéristiques.

Il ne s'agit donc pas d'artefacts mais de composantes correspondant à des C participant de groupements et configurations qui reviennent dans le schéma structural avec une fréquence de distribution significativement plus élevée que d'autres.

Pour assigner ces différentes composantes nous nous sommes référés

- aux tables de corrélations établies par Kalinowski et al [45] et par Ladner et al [35] (pour les C aromatiques), qui délimitent les domaines de résonance des différents "types" de carbones et donnent des indications sur le sens et l'importance des déplacements $\Delta\delta$ qu'induisent les divers substituants (tables d'incréments δ).

- aux résultats des différentes études portant sur les matières organiques des sols et sédiments, dont nous avons fait état en introduction, ainsi qu'aux corrélations qui ont été établies dans le cadre d'études RMN ^{13}C CP-MAS portant sur des matières organiques fossiles (kerogènes, charbon)

- aux spectres de biomolécules et de biopolymères, dont dérivent les constituants humiques et dont on retrouve les unités structurales et les motifs carbonés caractéristiques dans les sols [3, 98-108] et sédiments [109] (dans les extraits qu'on obtient après fractionnement chimique et dégradation oxydante ou réductrice du matériau organique) : Monosaccharides et oligosaccharides [45, 110, 111], Celluloses [57, 75, 90, 91, 92], Hemicelluloses [75], Gommes [93, 94] Chitines [95, 96], Acides aminés et peptides [45, 112] Protéines [72, 113]. Lignines [33, 68, 75, 97, 98, 121], Terpenoïdes [114, 115], Steroïdes [116], Lipides d'origine bactérienne [117].

La table de corrélations (AT 1) donnée en annexe a été établie à partir de ces différentes références :

- aux données générales concernant les caractéristiques, la constitution physico chimique et la dynamique de la fraction organique des différents types de sols dont on dispose actuellement [2, 83, 104, 118].

- Une bonne partie des valeurs de δ auxquelles nous nous référons ont été déterminées par RMN ^{13}C conventionnelle en phase liquide, à partir de constituants définis et relativement simples.

. Les spectres des échantillons solides sont souvent, toutes choses égales par ailleurs, plus complexes que ceux des échantillon en solution. Les C d'un groupement donné, qui en phase liquide participent d'un même "environnement chimique et magnétique" peuvent, dans le solide, occuper des positions qui ne sont pas toutes équivallentes du point de vue magnétique. Les conditions de champ local

peuvent différer légèrement en fonction de leur position dans le motif structural (en relation notamment avec les symétries).

. Les effets conformationnels et les interactions macroscopiques (liaisons intermoléculaires) spécifiques à la phase solide peuvent modifier localement la configuration électronique des atomes de C ce qui a pour effet d'étaler la plage de fréquences dans laquelles résonnent les C d'un type donné.

L'importance de ces effets ne doit cependant pas être exagérée [119].

- Pratiquement, si sans le solide les C considérés ne sont pas soumis à des effets magnétiques particuliers c'est-à-dire s'il ne se trouvent pas au voisinage immédiat de centres paramagnétiques ou de composants ferromagnétiques, on peut admettre que les déplacements "isotropes" qu'on obtient lorsqu'on fait tourner l'échantillon à vitesse suffisante, à l'angle magique (MAS), sont du même ordre à quelques ppm près, que ceux qu'on observe en RMN conventionnelle [25, 26, 47, 48, 119].

Dans le cas de la matière organique des sols, les études portant sur des acides humiques et fulviques, où il a été possible de comparer les spectres RMN ^{13}C-CP-MAS obtenus à partir des échantillons lyophilisés et les spectres conventionnels obtenus à partir d'échantillons redispersés en milieu NaOD dilué [17, 23, 24, 26, 27], confirment la validité de cette approche.

Nous passons en revue succintement les principaux types de groupements et motifs structuraux qui contribuent aux différents massifs, bandes et épaulement que nous différentions et qu'on est susceptible de trouver dans la fraction organique des sols, en nous référant, à titre d'illustration, aux spectres de trois fractions de l'Humine du Podzol.

Ces spectres sont reproduits sur les figures 2 et 3 . Ils ont été obtenus avec le CXP 90.

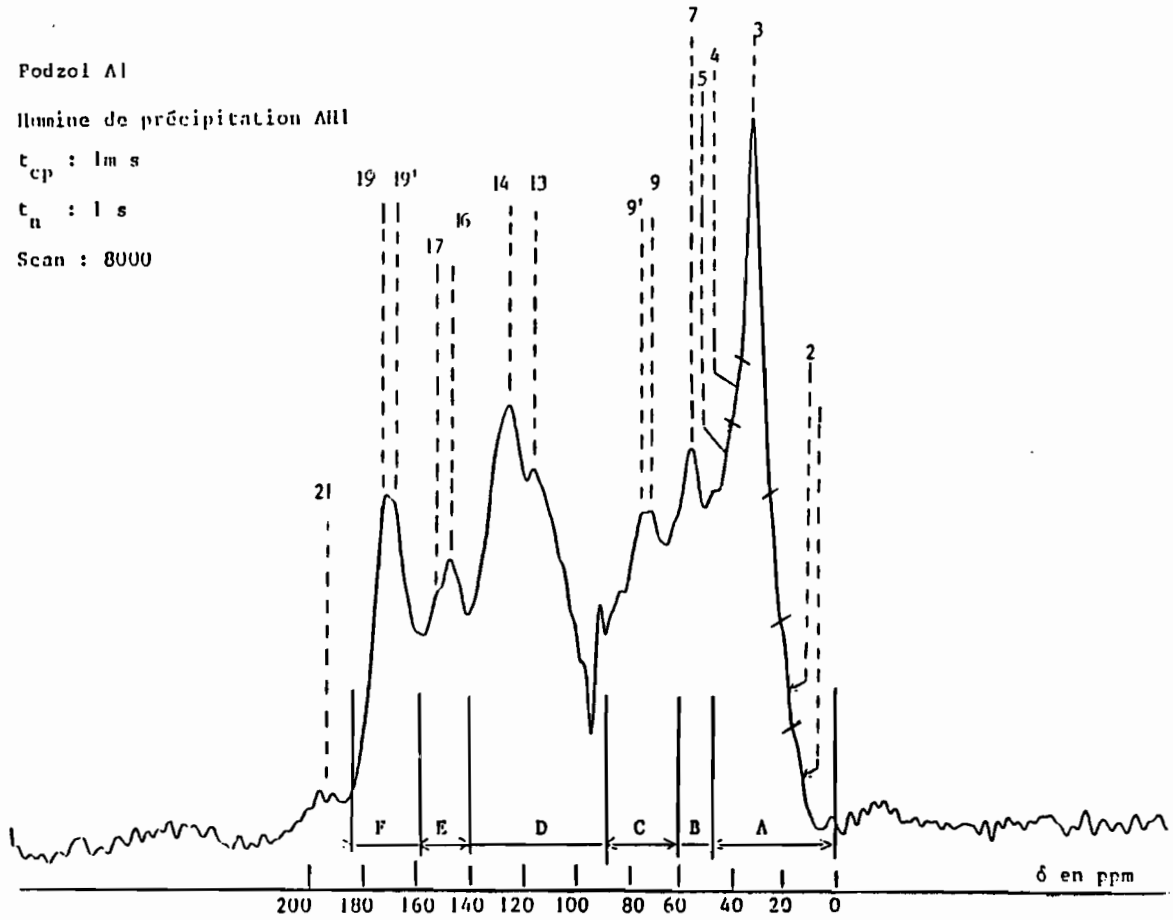
a) Domaine allant de 0 à 60 ppm

1.- Bande (-3-) : Différents groupements ont des δ compris entre 28 et 35 ppm et peuvent contribuer à cette bande qui est souvent la plus marquée du spectre.

. Groupements méthylène en γ ou plus d'un carbone aromatique et en β ou plus d'un $-CH_3$: $-CH_2-$ des chaines polymethyléniques peu ou non ramifiées, $-CH_2-$ de motifs polycycliques saturés (voir tableau TIIIa) hydroaromatiques ou hétérocycliques, $-CH_2-$ de certains acides aminés.

. Groupements méthine des motifs isoprenoïdes (voir tableau TIIIb) et $-CH<$ terminaux portant deux $-CH_3$ vicinaux (voir tableau TIIIa)

. $-CH_3$ et C quaternaires des groupements tert butyle terminaux, C quaternaires des motifs aliphatiques fortement ramifiés portant deux $-CH_3$.


Podzol A1
Humine de précipitation AH1
t_{cp} : 1m s
t_r : 1 s
Scan : 8000
7
3
4
5
19
19'
14
13
9
9'
16
17
2
21
F
E
D
C
B
A
δ en ppm
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

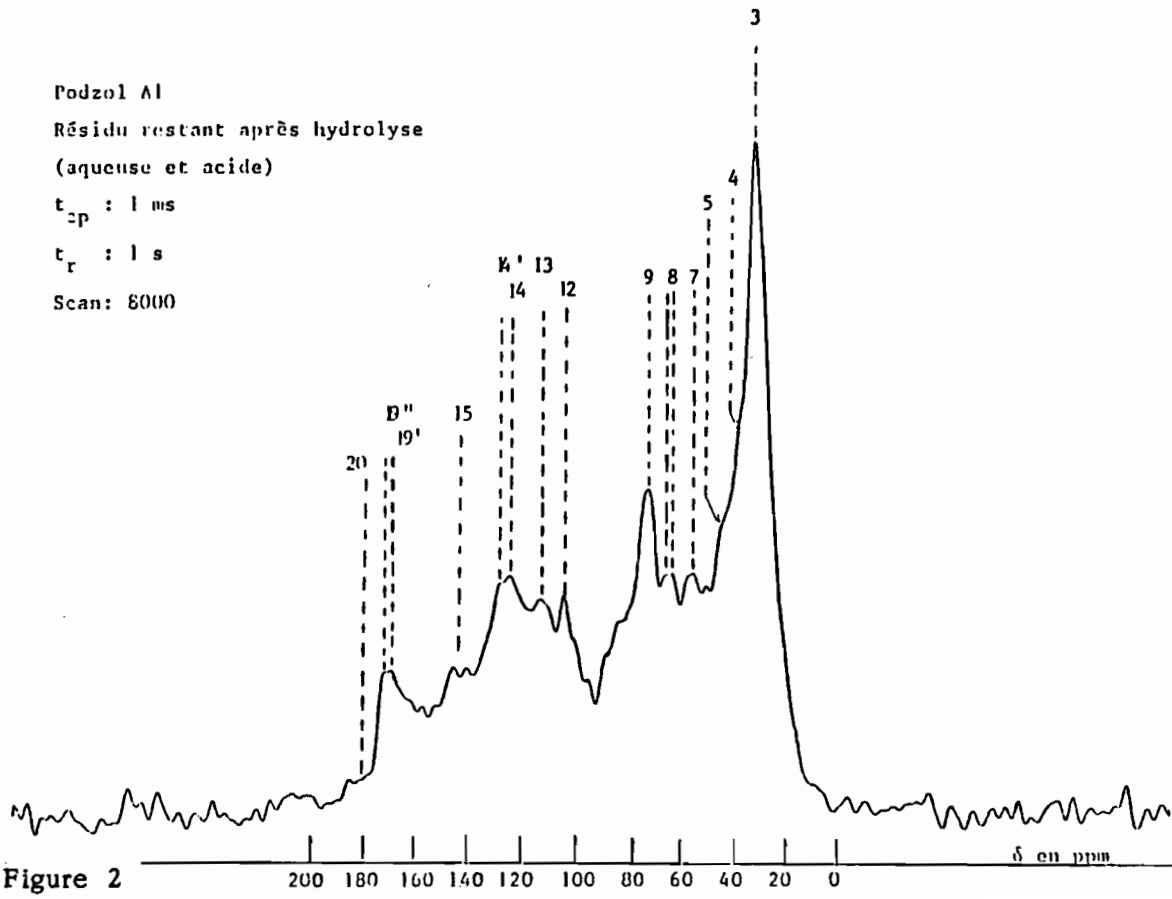

Podzol A1
Résidu restant après hydrolyse
(aqueuse et acide)
t_{cp} : 1 ms
t_r : 1 s
Scan: 8000
3
4
5
14'
13
14
12
9
8
7
19"
19'
15
20
δ en ppm
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 2

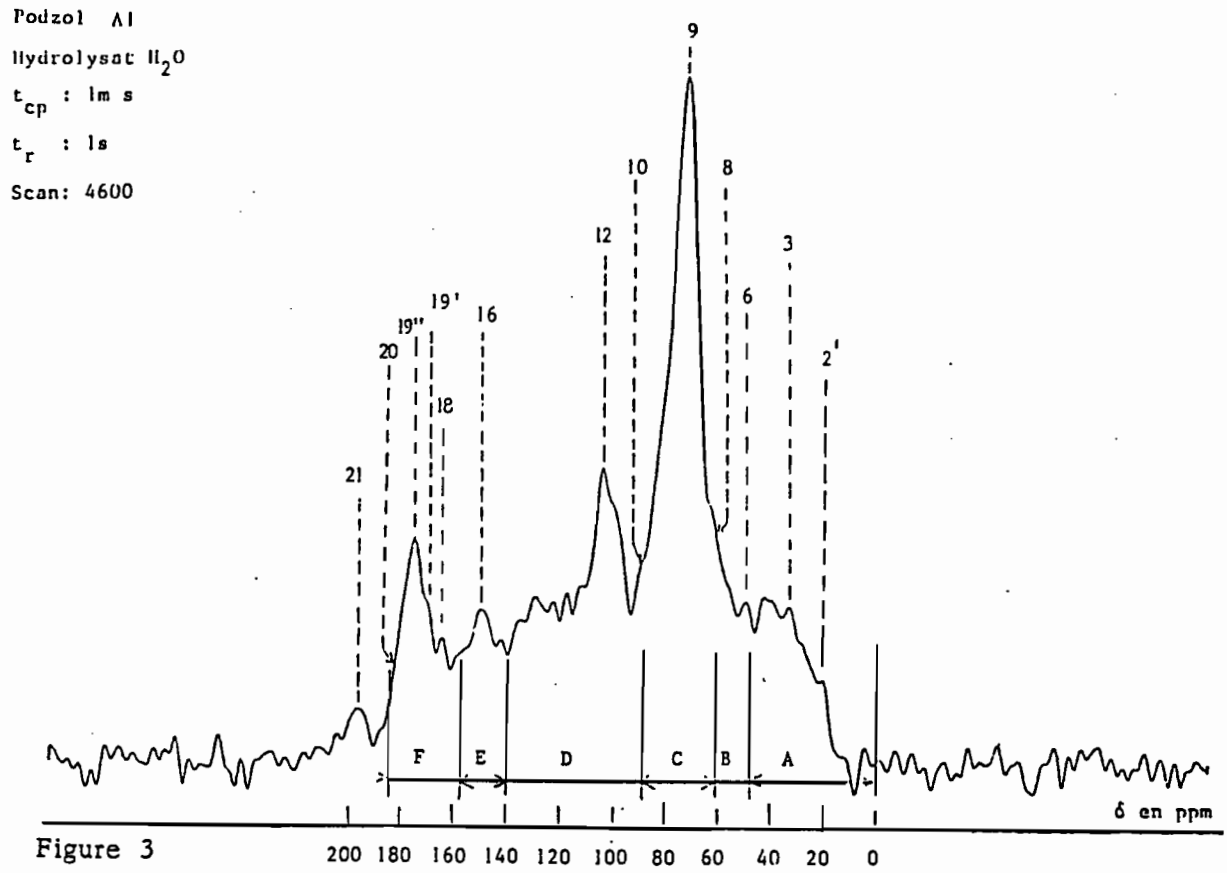


Figure 3

2.- La bande (-3-) est doublée d'un certain nombre d'épaulements, bien individualisés sur l'ensemble des spectres, surtout ceux obtenus avec le CXP 100, et qui peuvent être plus ou moins marqués selon les cas.

+ Du côté du champ croissant

- l'épaulement (-1-) entre 5 et 20 ppm correspond aux résonances de groupements méthyle : $-CH_3$ terminaux des chaines alkyliques ($\delta < 18$ ppm), $-CH_3$ des motifs polycycliques (voir tableau TIIIa), $-CH_3$ des motifs isoprenoïdes ($20 > \delta > 17$) (voir tableau TIIIb).

- l'épaulement (-2-) entre 20 et 28 ppm est associé à certains groupements méthyle, aux $-CH_2-$ et $-CH<$ en α de $-CH_3$.

Il se subdivise en deux domaines qui se différentient assez nettement sur les spectres qu'on obtient avec le CXP 100 et dont on retrouve l'empreinte sur certains des spectres obtenus avec le CXP 90.

— (-2'-), entre 20 et 25 ppm. Dans ce domaine apparaissent les signaux

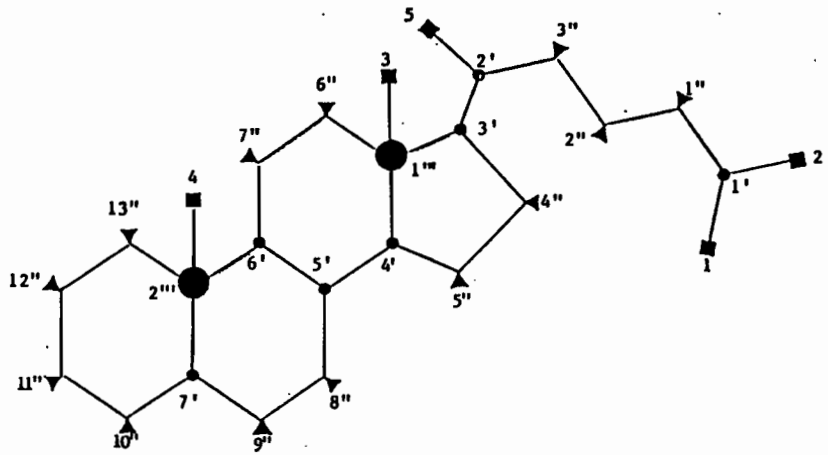
. des $-CH_3$ portés par les noyaux aromatiques

. des $-CH_3$ vicinaux portés par les groupements méthine terminaux de chaines alkyliques (voir tableau IIIa)

. du CH_3- des groupements acétate (carbohydrate)

. des CH_2 subterminaux de chaines polymethyléniques (en α du $-CH_3$).

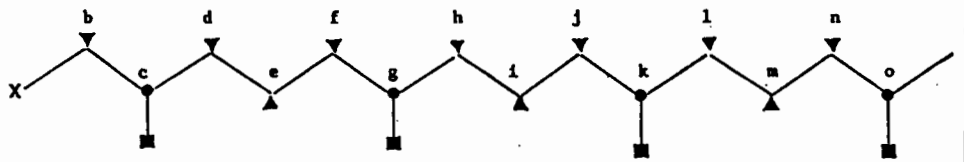
a) Motif polycyclique : cholestane (RMN conventionelle) d'après |45|



■ – CH_3	– 1,2	: 22–25 ppm	contribuent à la composante	(–2'–)
	– 3,4	: <15 ppm	_____	(–1–)
	– 5	: 17–20 ppm	_____	(–1–)
● CH–	–1'	: 28–30 ppm	_____	(–3–)
	–2',5'	: 35–37 ppm	_____	(–4–)
	–7'	: 40–45 ppm	_____	(–5–)
▲ – CH_2–	–1"	: 40 ppm	_____	(–5–)
	–2",11"	: 24–28 ppm	_____	(–2"–)
	–7",12"	: 21–23 ppm	_____	(–2'–)
	–4",8",9",10"	: 29–32 ppm	_____	(–3–)
	–6",13"	: 38–42 ppm	_____	(–4–)
	–3"	: 36–38 ppm	_____	(–4–)
	–5"	: 22–25 ppm	_____	(–2'–)
● – C –	1''',2'''	: 35–45 ppm	_____	(4et5)

Au total sur la 27 C : 3 contribuent à l'épaulement (–1–)
5 _____ (–2'–)
2 _____ (–2"–)
5 _____ à la bande (–3–)
5 _____ à l'épaulement (–4–)
3 _____ (–5–)

b) Motif isoprenoïde : Composante du squelette carboné de lipides bactériens (RMN conventionnelle) d'après |117|



■ – CH_3 (iso) : 18<δ<20 ppm : contribuent à l'épaulement (–1–)

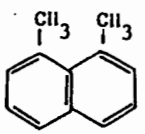
▼ – CH_2– : –b,d,f,h,j,l,n : 35<δ<38 ppm : contribuent à la compsante (–4–)

: –e,i,m : 23<δ<25 ppm : contribuent à la composante (–2'–)

● – CH – : c,g,k,o : 31<δ<34 ppm : contribuent à la composante (–3–)

Sur 18 C – 4 résonnent dans la plage de δ correspondant à la composante (–1–)
3 _____ (–2'–)
4 _____ (–3–)
7 _____ (–4–)

c)



d) Acide Stéarique

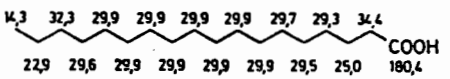
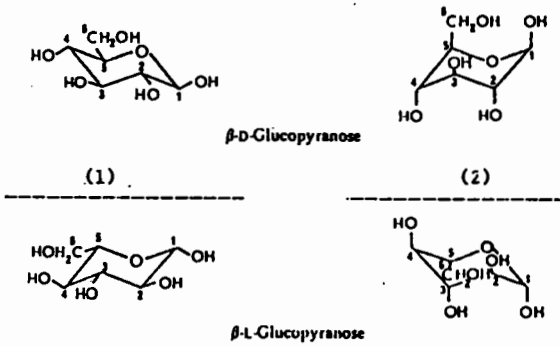


Tableau T III : δ des différents C de motifs structuraux types

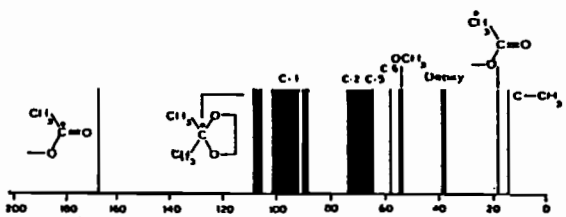
c) Carbohydrates



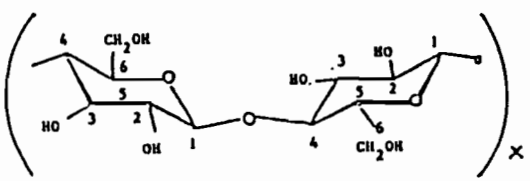
(1) et (3) : liaisons C-OH toutes de direction équatoriale

(2) et (4) : liaisons C-OH de direction axiale

Glucopyranose : 4 types de conformations préférentielles

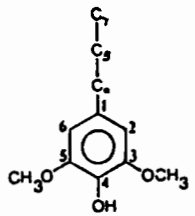


Domaines de résonances des différents C des cycles pyranose d'après Hall in [125] p.1318

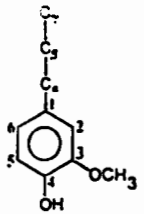


Motif structural de la Cellulose

f) Lignines



Motif syringyl



Motif guaiacyl

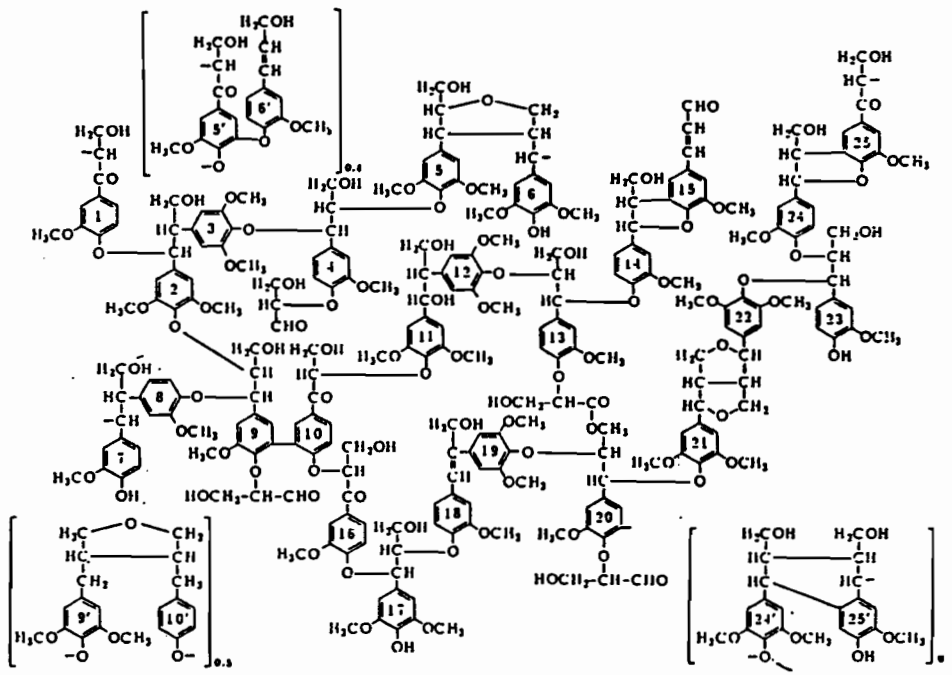


Schéma structural d'une lignine de feuillus (Hêtre) d'après Nimz [121]

Domaines de résonances des différents types de C

I. Csp^2 du cycle benzenique

1) C(Ar)-OCH_3

a) Motifs syringyl

- C_4 portant un groupement ether :

  C_3 et C_5 des noyaux 2,3,5,11,12,19,21,22

  $\delta > 153$ ppm : effet ortho du C(Ar)-O-R ($\Delta\delta < 0$) le C_4 étant lui-même soumis à l'effet para du $-C_\alpha H-$($\Delta\delta > 0$), effet meta de l'autre groupement $-OCH_3$ ($\Delta\delta > 0$)

- C_4 portant un groupement -OH

  C_3 et C_5 des noyaux 6 et 17

  $\delta < 150$ ppm : effet ortho ($\Delta\delta < 0$) plus marqué de l'OH phénolique.

b) Motifs guaiacyl

- C_4 portant un groupement ether ou -OH

  C_3 des noyaux 4,7,8,9,13,14,18,20,20,23,24

  $147 < \delta < 150$ ppm : effet ortho du C(Ar)-O-R ($\Delta\delta < 0$) le C_4 étant lui-même soumis à l'effet para du $-C_\alpha H-$

2) C(Ar)-OH

a) Motifs syringyl

C_4 des noyaux 6 et 16

$135 < \delta < 138$ ppm : effet ortho des deux C(Ar)-OCH_3 ($\Delta\delta < 0$), le C_4 étant lui-même soumis à l'effet para du $-C_\alpha H-$

b) Motifs guaiacyl

C_4 des noyaux 7,15,23

$146 < \delta < 150$ ppm : effet ortho d'un C(Ar)-OCH_3, le C_4 étant lui-même soumis à l'effet para du $-C_\alpha H-$

3) C(Ar)-O-CH

a) Motifs syringyl

C_4 des noyaux 2,3,5,11,12,21,22

$137 < \delta < 140$ ppm : effet ortho des deux C(Ar)-OCH_3 ($\Delta\delta < 0$)

effet para du $-C_\alpha H<$ ($\Delta\delta > 0$)

b) Motifs guaiacyl

C_4 des noyaux 4,8,13,14,20,24

$150 < \delta < 154$ ppm : effet ortho du C(Ar)-OCH_3 ($\Delta\delta < 0$), effet para du $-C_\alpha H<$ ($\Delta\delta > 0$)

4) Csp^2 alkyle substitués

a) C(Ar)-CH$<^{CRR'}_{CRR'}$ ($-C_\alpha$ non hétérosubstitué)

- en para d'un Csp^2 hétérosubstitué (C(Ar)-O-R ou C(Ar)-OH) et en ortho d'un Csp^2 protoné

  C_1 des noyaux 3,5,6,7,12,7,19,23,8

  $132 < \delta < 135$ ppm : effet para du groupement ether ou phénol ($\Delta\delta < 0$)

- en ortho d'un Csp^2 hétérosubstitué

  C_5 des noyaux 3,15,25

  $128 < \delta < 132$ ppm : effet ortho du groupement ether ($\Delta\delta < 0$)

b) C(Ar)-CH$<^{CHR}_{\text{O-Ar (ou R) ou OH}}$ ($-C_\alpha$ hétérosubstitué)

- en para d'un groupement C(Ar)-O-R

  C_1 des noyaux 2,11,21,22

  $138 < \delta < 140$ ppm : effet para du groupement ether

c) C(Ar)-CH$<^{CH-O}_{\text{O-Ar (ou R)}}$ ($-C_\alpha$ et C_β hétérosubstitués)

- en para d'un groupement ether

  C_1 des noyaux 4,9,13,14,20,24

  $135 < \delta < 137$ ppm : effet para du groupement ether

d) C(Ar)-CH=CH (ou -C)- ($-C_\alpha$ conjugué)

- en para d'un groupement ether

  C_1 des noyaux 15 et 18

  $130 < \delta < 133$: effet para du groupement ether, effet β de la double liaison ethylénique.

5) Csp^2 protonés

a) en ortho d'un Csp^2 protoné ou alkyle substitué

- en para d'un Csp^2 protoné ou alkyle substitué

  C_6 et C_2 du noyau 10 : $128 < \delta < 131$ ppm

- en para d'un Csp^2 hétérosubstitué (groupement C(Ar)-OCH_3)

  C_6 des noyaux 4,7,13,14,20,23,2',8,18,9

  $119 < \delta < 123$: effet para du groupement methoxy ($\Delta\delta < 0$), effet meta d'un groupement phenol ou ether ($\Delta\delta > 0$)

b) en ortho d'un Csp^2 hétérosubstitué : C(Ar)-OH, C(Ar)-OCH_3, C(Ar)-O-R et en para d'un Csp^2 protoné ou alkyle substitué -motifs guaiacyl-

C_5 des noyaux 1,4,7,8,13,14,18,20,23,24

C_2 des noyaux 1,4,7,8,9,13,14,15,16,18,20,23,24

110 < δ < 116 ppm : effet ortho du groupement oxycarboné ($\Delta\delta$ < 0)

effet meta du groupement OCH_3 ($\Delta\delta$ < 0)

c) en ortho et para d'un Csp^2 hétérosubstitué : C(Ar)-OCH_3 -motif syringyl-

C_2 et C_6 des noyaux 2,3,5,6,11,12,17,19,21,22

104 < δ < 108 : effet ortho et para des groupements OCH_3 ($\Delta\delta$ < 0)

effet meta du groupement -OH ou C(Ar)-O-R ($\Delta\delta$ < 0)

En moyenne 29 % des Csp^2 ont des δ compris entre 145 et 155 ppm
16 % des Csp^2 ont des δ compris entre 135 et 145 ppm
13 % des Csp^2 ont des δ compris entre 125 et 135 ppm
10 % des Csp^2 ont des δ compris entre 118 et 125 ppm
38 % des Csp^2 ont des δ compris entre 100 et 118 ppm

II. Chaines latérales

1) -Cα-

a) -Cα- participant d'une liaison alkyl-aryl ether (liaison α -O-4) ou alkyl-alkyl ether, le Cβ n'étant pas hétérosubstitué : - α ether-

+ ethers cycliques

Cα des noyaux 14 et 24 (liaison β -5) et des noyaux 21 et 22 (cycles tétrahydrofurane doubles, liaison β - β) : 85 < δ < 90 ppm

+ ethers non cycliques

Cα des noyaux 2,7,11 (liaison β -1) : $\delta \approx 75$ ppm

b) -Cα- participant d'une liaison alkyl-aryl ether (liaison α -O-4), le Cβ participant lui-même d'une liaison ether (liaison β -O-γ) : - $\alpha_1\beta$ ethers-

Cα des noyaux 4,9,13,17,20,23 : 70 < δ < 75 ppm

2) -Cβ-

a) -Cβ- participant d'une liaison C-C

+ motifs non cycliques

Cβ des noyaux 2,7,11 (liaison β -1) : 62 < δ < 65 ppm

+ motifs cycliques

Cβ des noyaux 6,21,22 (cycles tetrahydrofurane doubles : liaisons β - β) des noyaux 14 et 24 (liaison β -5)

52 < δ < 55 ppm

3) -Cγ-

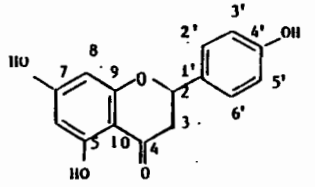
a) Cγ participant d'une liaison ether : -C H_2-O-CH

Cγ des noyaux 6,21,22 : 70 < δ < 75 ppm

b) Cγ participant d'un groupement alcool primaire C$\gamma$$H_2$-OH

Cγ des noyaux 1,2,4,7,9,10,11,13,14,16,17,18,20,23,24,25

61 < δ < 65 ppm.



g) 5, 7, O'$(OH)_3$ Flavone

- carbones sp^3 : >CH - O - 2 : 80,3 ppm
  : >CH - (CAr) 3 : 43,5 ppm

- carbones sp^2 protonés
  - . en ortho et para d'un Csp^2 protoné ou alkyle substitué : 2',6' : 129,1 ppm
  - . en ortho d'un Csp^2 hétérosubstitué : 3',5' : 116,5 ppm
  - . en ortho de deux Csp^2 hétérosubstitués : 6 : 97,3 ppm
  - . en ortho et para d'un Csp^2 hétérosubstitué : 8 : 96,5 ppm

- carbones sp^2 quaternaires
  - . alkyle substitué en para d'un Csp^2 hétérosubstitué : 1' : 131 ppm
  - . lié à un - C^0 et en ortho d'un Csp^2hétérosubstitué : 10 : 103 ppm

- carbones sp^2 hétérosubstitués
  - . portant un -OH phénolique : 5 (165,1 ppm) 7 (168,2ppm),4' (158,5 ppm)
  - . participant d'une liaison ether cyclique :9: 164,7 ppm
  - . groupements quinoïde :4: 192,2 ppm

— (-2"-), entre 24 et 28 ppm. Dans cette zone apparaissent les signaux

. de $-CH_3$ participant de certaines configurations particulières.

$-CH_3$ vicinaux portés par un $-CH<$ en α d'un carbone aromatique (groupements isopropyle portés par un noyau aromatique).

$-CH_3$ vicinaux portés par les C quaternaires des chaines alkyles ramifiées ($-C(CH_3)_2-$)

- CH_3 vicinaux des motifs polyaromatiques (voir tableau TIIIc).

. de certains $-CH_2-$ des motifs polycycliques, hydroaromatiques ou hétérocycliques (voir tableau TIIIa).

. des $-CH_2-$ en α d'un $-CH_3$ et en α ou β d'un carbone aromatique (groupements ethyle ou propyle latéraux).

. des $-CH_2-$ de chaines alkyle longues en β d'un -COOH ou -COOR (voir tableau T III d).

+ Du côté du champ décroissant

Trois épaulements doublent la bande (-3-) respectivement entre 35 et 40 ppm (-4-), entre 40 et 45 ppm (-5-) et entre 45 et 52 ppm (-6-).

- Dans la plage de δ allant de 35 à 40 ppm apparaissent les signaux

. des $-CH_2-$ de groupements $-(CH_2)_n-$ ($n > 4$) en α ou β d'un Csp^2 aromatique

. des $-CH_2-$ de groupements $-(CH_2)_n-$ en α d'un -COOH ou -COOR

. de certains $-CH_2-$ des chaines isoprenoïdes (voir tableau III b)

. de certains $-CH_2-$, $>CH-$ et $-\overset{|}{\underset{|}{C}}-$ des motifs polycycliques (voir tableau T III a).

- Dans la plage de δ allant de 40 à 45 ppm apparaissent les signaux

. des $-CH_2-$ pontants entre noyaux aromatiques

. des $-CH_2-$ en α d'un carbone aromatique et d'un groupement methine:chaines latérales ramifiées ($Ar-CH_2-CH<$).

. de groupements méthine (autres que ceux portant un $-CH_3$) des chaines aliphatiques ramifiées, des motifs polycycliques et hydroaromatiques

. des groupements méthine pontants entre noyaux aromatiques

. de $-CH_2-$ et $>CH-$ en α de groupements NH_2 (acides ε aminés, aminosucres)

. des $-CH_3$ de groupements $-N(CH_3)_2$

- Dans la plage de δ allant de 45 à 52 ppm apparaissent les signaux

. des CH_2 en α du groupement NH_2 de certains acides aminés

. de $-CH<$ participant des motifs polycycliques et hydroaromatiques (voir tableau III a)

. des CH_3 des esters méthyliques ($-COO-CH_3$)

. de certains carbones quaternaires (autres que ceux portant un CH_3)

+ Dans la plage allant de 50 à 60 ppm apparaissent les signaux

. de $-CH_2-$ et $>CH-$ en α du groupement NH_2 des acides α aminés

. de carbones quaternaires

. du $-CH_3$ groupements methoxy.

Le δ des carbones sp^3 protonés ou quaternaires qui participent du squelette carboné des composés fortement ramifiés, polycycliques, hydroaromatiques et de macromolécules, comme les protéines, qui présentent une grande diversité de configurations et de conformations, prend une succession quasi continue de valeur dans la gamme allant de 20 à 60 ppm, suivant le groupement dont ils relèvent et la position qu'ils occupent dans ces motifs.

Sur les spectres de nos échantillons les signaux correspondants à l'ensemble de ces carbones doivent se distribuer de façon uniforme dans toute la plage de δ considérés pour former un massif de résonances indifférentiées, c'est-à-dire dont aucune des composantes ne prend statistiquement plus d'importance relative que les autres (ne présentant ni maximas, ni inflexions marquées c'est-à-dire dont l'allure doit être comparable à celle que présente le spectre de l'Hydrolysat (figure 3), dans cette zone.)

Les groupes de signaux plus marqués qui se détachent de ce massif dans les domaines A et B pour former les bandes et épaulements que nous avons différentiés, doivent être associés à des carbones

. de motifs répétitifs ne faisant intervenir qu'un type ou un nombre limité de types de configurations : chaines paraffiniques peu ou non ramifiées motifs isoprénoïdes

. de groupements ou motifs qui devraient prendre une importance particulière dans le schéma structural des constituants organiques du sol : CH_2 subterminaux de chaines paraffiniques en α et β d'un -COOH ou -COO-R (acides gras à longue chaine et leurs esters), $-CH_2-$, -CH-, $-CH_2-CH_2-$ pontants entre noyaux aromatiques, groupements alkyle à chaine courte portés par les noyaux aromatiques, $-CH_3$ terminaux et portés par les carbones aromatiques, CH_3 des groupements acétate (polysaccharides).

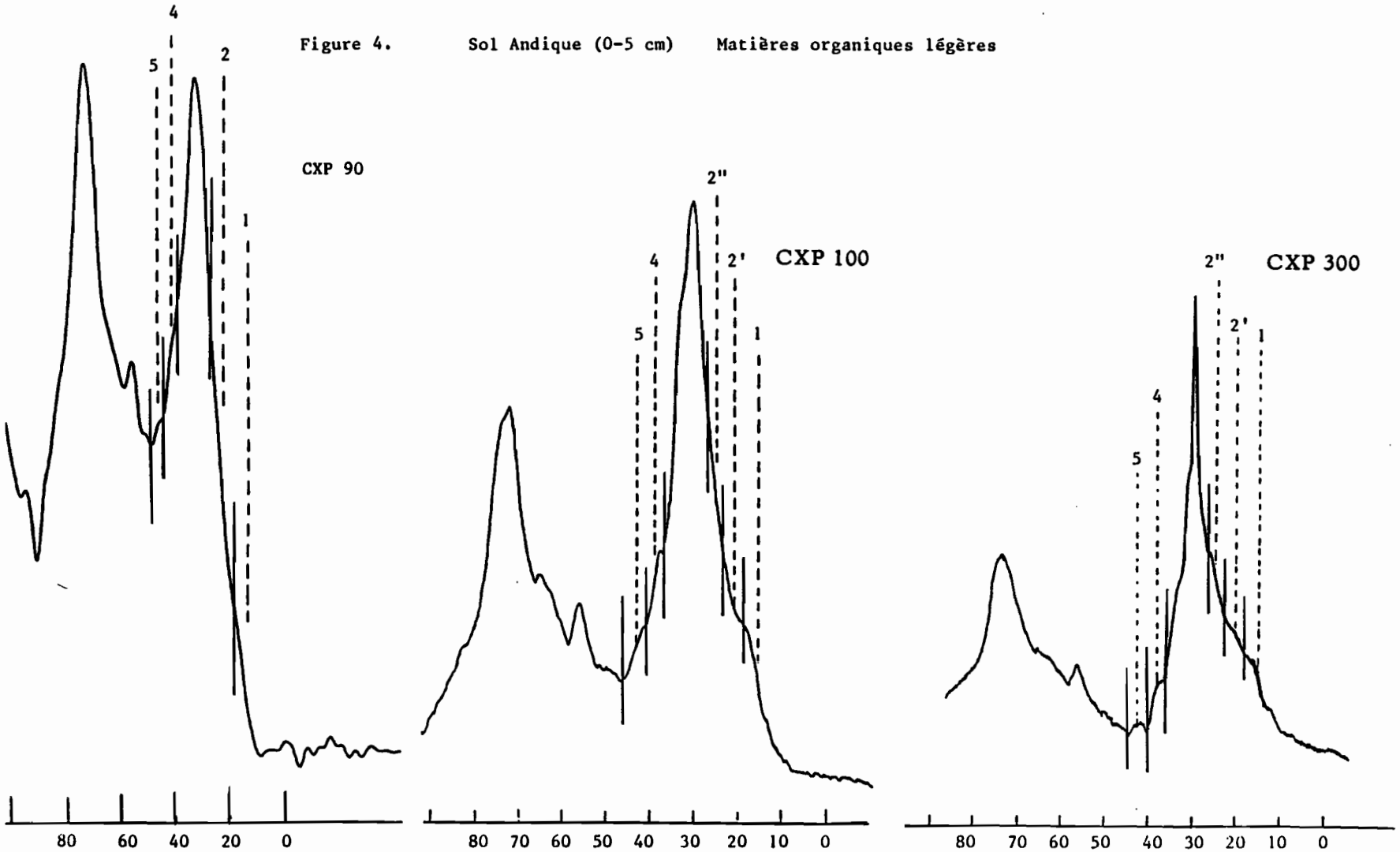
Une analyse comparative des spectres des différents sols et fractions dans cette plage de δ permettra de se faire une idée de l'importance relative que prennent ces différents types de motifs carbonés dans le schéma structural ce qui peut fournir des indications sur la nature et l'origine des constituants ("composition biochimique" [28]) et sur certains aspects de la dynamique de la matière organique dans les sols considérés (importance relative de la biodégradation et la contribution respective du processus d'héritage et de néoformation).

— Sur les spectres de l'Humine de précipitation et du résidu d'hydrolye la bande (-3-) est bien individualisée et se détache nettement du massif de résonances "basal". Les enchainements méthyléniques $-(CH_2)_n-$, à n élevé, peu ou non ramifiés doivent prendre une part marquée dans le schéma structural de ces deux fractions.

Cette bande est en fait complexe, comme le montre la figure (4) où nous comparons les spectres d'un même échantillon -matières organiques légères provenant de l'horizon A_0 du sol Andique- obtenus avec trois spectromètres Bruker de performances différentes : CXP 90, CXP 100 et CXP 300.

Sur le spectre obtenu avec l'appareil à haut champ elle se résout en trois composantes d'importances relatives différentes. La plus intense, qui est aussi la

Figure 4. Sol Andique (0-5 cm) Matières organiques légères



mieux définie (c'est-à-dire la moins large) est ici centrée autour de 29 ppm.

→ Deux composantes, centrées respectivement autour de 29 à 30 ppm et autour de 33 à 34 ppm peuvent être individualisées sur l'ensemble des spectres qu'on obtient avec le CXP 100. (Elle sont indiscernables sur les spectres qu'on obtient avec le CXP 90 -la bande (-3-) est ici centrée autour de 32 $\pm$ 1 ppm).

Elles ont des amplitudes du même ordre et doivent correspondre toute deux à des configurations répétitives linéaires du type $-(CH_2)_n$;

. de conformations différentes

. participant de motifs ou constituants qui se différentient par leur degré de structuration macroscopique (long range order) par la nature et la force des liaisons intermoléculaires (qui relient les chaines polyméthyleniques entre elles ou aux autres composantes des complexes macromoléculaires considérés).

— Sur le spectre de l'Hydrolysat aqueux la bande (-3-) ne se différentie pas des autres composantes du massif A.

Les constituants aliphatiques à longue chaine ne passent pas en solution. Ceci explique que leur importance relative augmente dans les fractions qu'on sépare après hydrolyse.

— L'empreinte des composantes (-2'-) et (-2"-) est assez bien marquée sur le spectre (CXP 90) de l'Humine de précipitation.

. L'épaulement (-2'-) doit correspondre, pour l'essentiel, aux signaux des $-CH_2-$ subterminaux (c'est-à-dire en α du méthyle terminal) de chaines alkyliques du type $-(CH_2)_n-CH_2-CH_3$ ($n > 2$). Il est en effet très fortement atténué après déphasage dipolaire (voir plus loin).

. Cette fraction est riche en Csp^2 aromatiques dont une proportion notable sont alkyle substitués, comme nous aurons l'occasion de le confirmer plus loin.

Une partie des signaux contribuant à l'épaulement (-2"-) peuvent être associés ici aux résonances des $-CH_2-$ et $-CH_3$ de motifs de type propyle ou isopropyle portés par les noyaux aromatiques.

N.B. : Lors de la ligninolyse la coupure des chaines latérales de type arylique (Ar-CH = CH-COOH (ou CH_2OH) intervient préférentiellement au niveau de la double liaison [120]. Des groupements isopropyle pourraient se former à ce stade.

. La part prise par les signaux correspondant aux $-CH_2-$ de chaines alkyliques $-(CH_2)_n-$ ($n > 4$) en β d'un groupement carboxyle (-COOH ou ester) doit également être appréciable au niveau de cet épaulement.

Près de 12 % des C de cette fraction participent de groupements carboxyle ou amide.

L'examen du spectre IR (voir figure 7 p. 21) montre que la part prise par les groupements amide doit être relativement limitée. Les bandes ν C-O des groupements -COOH et esters aliphatiques (n) sont bien marquées. Une proportion notable des signaux contribuant au massif F du spectre RMN doivent ici correspondre à des groupements -COOH et esters aliphatiques.

- Sur le spectre de l'Hydrolysat, l'épaulement (-2'-) qui marque la limite du domaine A doit correspondre pour l'essentiel aux signaux des $-CH_3$ des groupements acétate portés par les carbohydrates.

- Les épaulements (-4-) et (-5-) sont particulièrement marqués sur le spectre du résidu d'hydrolyse.

Ceci est dû, en partie, au fait que la part prise par les C participant des chaines peptidiques (qui contribuent au massif de résonances "basal" dans cette zone de δ) est ici nettement plus réduite que dans l'Humine de précipitation. (- Les C/N de ces deux fractions étant respectivement de 41 et 18.-) Les signaux contribuant plus specifiquement à ces épaulements sont ainsi relativement mieux individualisés.

. Epaulement (-4-) : La contribution des CH_2 (de chaines $-(CH_2)_n-$ à $n > 4$) en α d'un carboxyle, -COOH terminal ou groupement ester, doit être relativement limitée. (Le pourcentage d'aire du massif F des $-C\overset{O}{<}$ ne dépasse pas 6 %).

(- Elle doit par contre être nettement plus importante sur le spectre de l'Humine de précipitation.)

Cet épaulement est associé ici, pour l'essentiel, aux $-CH_2-$ de chaines alkyliques ($-(CH_2)_n-$ à $n > 4$) en α d'un carbone aromatique (chaines latérales de longueur variable autres que propyle ou isopropyle) et à des $-CH_2-$ de motifs isoprenoïdes (phytanes, lipides microbiens).

- L'épaulement (-5-) doit correspondre aux $-CH_2-$ et $-\underset{|}{C}H-$ pontants entre noyaux aromatiques.

+ La bande (-7-) centrée autour de 55 ± 2 ppm est caractéristiques des groupements methoxy portés par les carbones aromatiques ($Ar-COH_3$) -composante caractéristique du motif structural des lignines.- Il est particulièrement bien marqué sur le spectre de l'Humine de précipitation.

Les signaux des $-CH_3$ des groupements alkyle-methoxy ($R-CH_2-OCH_3$) apparaissent en général dans une zone de δ légèrement plus élevés(57 à 62 ppm).

Des carbones quaternaires (composantes structurales aliphatiques fortement ramifiées) contribuent également au massif de résonances dans cette plage de fréquences.

Domaine allant de 60 à 90 ppm

-1) La bande (-9-) en général la plus marquée de ce domaine est centrée autour de 74 ppm. Elle peut être associée à différents types de groupements O-alkyle.

. $>$CHOH et $>$CH-O-C du cycle des oses : $C_{2,3}$ et 5 des hexoses, C_2 et 3 des pentoses (tableau III e1, e2, e3).

. $-CH_2-$ participant de groupement ether : [R ou (Ar)]$-CH_2-O-R'$ (où R' est un groupement alkyle saturé, ou non, autre que $-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$ ou $-C(CH_3)_3$)

. $>$CH- des chaines propyliques du motif structural des lignines portant un OH ($-CH_\alpha-OH$) ou participant d'un groupement ether $HC_\alpha-O-Ar$ (voir tableau III f).

-2) Cette bande est doublée de deux groupes d'épaulements

+ (-8-) entre 58 et 70 ppm. Dans ce domaine de δ apparaissent les signaux

. des CH_2 de groupements alcool primaire : C_6 du cycle des hexoses C_5 du cycle des pentoses. (Voir tableau III e), $-C_\gamma H_2-OH$ du motif structural des lignines (Voir tableau III f).

N.B. : des $>$CH- non oxygénés des chaines propyliques de la lignine peuvent donner des signaux dans cette zone de δ ($-C_\beta H-Ar$ voir tableau III f).

. des $-CH_2-$ et $>$CH-, en β du carbonyle, des groupements esters : $R-CH_2-COO-\dot{C}H_2-R'$ ($58 < \delta < 65$), $Ar-COO-\dot{C}H_2-R'$ ($\delta > 65$ ppm), $R-CH_2-COO-\dot{C}H(R',R'')$ ($64 < \delta < 68$ ppm)

+ (-10-), entre 80 et 90 ppm. Dans ce domaine apparaissent les signaux

. Des C, autres qu'anomériques, participant des liaisons glycosidiques : (C_4 du cycle β D glucopyranose des enchainements 1 $\longrightarrow$ 4 glucoses de la cellulose, C au niveau desquels sont "greffées" les chaines latérales dans les motifs polysaccharidiques ramifiés).

. De $>$CH- participant de groupements alkyl ethers : $>$CH-O-R (où R est un groupement alkyle) : les $-HC_\alpha-O-CH_2$ et $-HC_\beta-O-CH<$ des cycles tétrahydrofurane doubles du motif structural des lignines (voir tableau III f) résonent dans cette zone de δ .

. de certains $>$CH- participant de groupements aryl-alkyl ether du motif structural des lignine : $-HC_\beta-O-Ar$, des chaines dont le C_α participe lui-même d'une liaison ether (voir tableau TIII f).

. des carbones quaternaires participant de groupements ether.

— Des groupements oxycarbonés de constituants très variés peuvent donc contribuer au massif de résonances du domaine C et il sera en général difficile de faire la part de ce qui revient plus particulièrement aux carbohydrates sans recourir à des traitements chimiques complémentaires (hydrolyses).

La situation est encore compliquée par le fait que les polysaccharides du sol présentent une grande diversité de compositions (nature des monomères constituants) et de conformations moléculaires, ainsi que des degrés de structuration très variables.

Ils peuvent être diversement substitués -par des groupements -COOH (acides uroniques), NH_2 (amino sucres), $-OCH_3$ et $-CH_3$ (deoxyglucides)- et sont souvent associés à d'autres constituants (lipides, peptides, composé phenoliques, lignine) par l'intermédiaire de liaisons covalentes -ether, esters ou glycosidiques-.

Les signaux des C constituants vont donc se distribuer dans toute la plage de δ allant de 60 à 105 ppm.

Les pics et épaulements qui se détachent du massif de résonance "basal" correspondent aux groupements et configurations qui prennent statistiquement plus d'importance que les autres dans le schéma structural et qui ne sont pas toujours ceux participant des carbohydrates.

— Dans le cas de l'Hydrolysat aqueux, l'importance de la bande (-12-) des carbones anomériques, qui se détache nettement du massif de résonances des Csp^2, indique que le massif C doit correspondre, pour l'essentiel aux signaux de carbones participant des carbohydrates.

La bande (-9-) est large et, sur le spectre qu'on obtient avec l'appareil à haut champ elle ne se résout pas, comme la bande (-3-) du domaine A, en plusieurs composantes bien différentiées.

Les carbohydrates extraits par l'eau à 70°C à partir de l'Humine doivent présenter une grande diversité de compositions, structures et conformations.

A titre de comparaison nous avons reproduit sur la figure 6 les spectres d'une cellulose microcristalline et d'une cellulose amorphe et d'une Hemicellulose.

— L'analyse du spectre de l'Humine hydrolysée montre que la séquence de traitements acides mis en oeuvre n'a pas permis d'extraire la totalité du matériau polysaccharidique. La bande (-12-) des carbones anomériques est encore nettement individualisée.

Elle est cependant beaucoup moins marquée que sur le spectre de l'Humine de départ.

. Le massif de résonances "basal" du domaine C est ici constitué en grande partie de signaux correspondant aux carbones de groupements oxycarbonés autres que ceux des carbohydrates : $>$ CHOH et $-CH_2OH$, groupements ether et esters des macromolécules humiques, groupements ether du motif structural de la lignine.

. La bande (-9-), qui se détache encore nettement de ce massif et que nous associons aux $C_{2,3 \text{ et } 5}$ du cycle des hexoses, est moins large que sur le spectre de l'Hydrolysat.

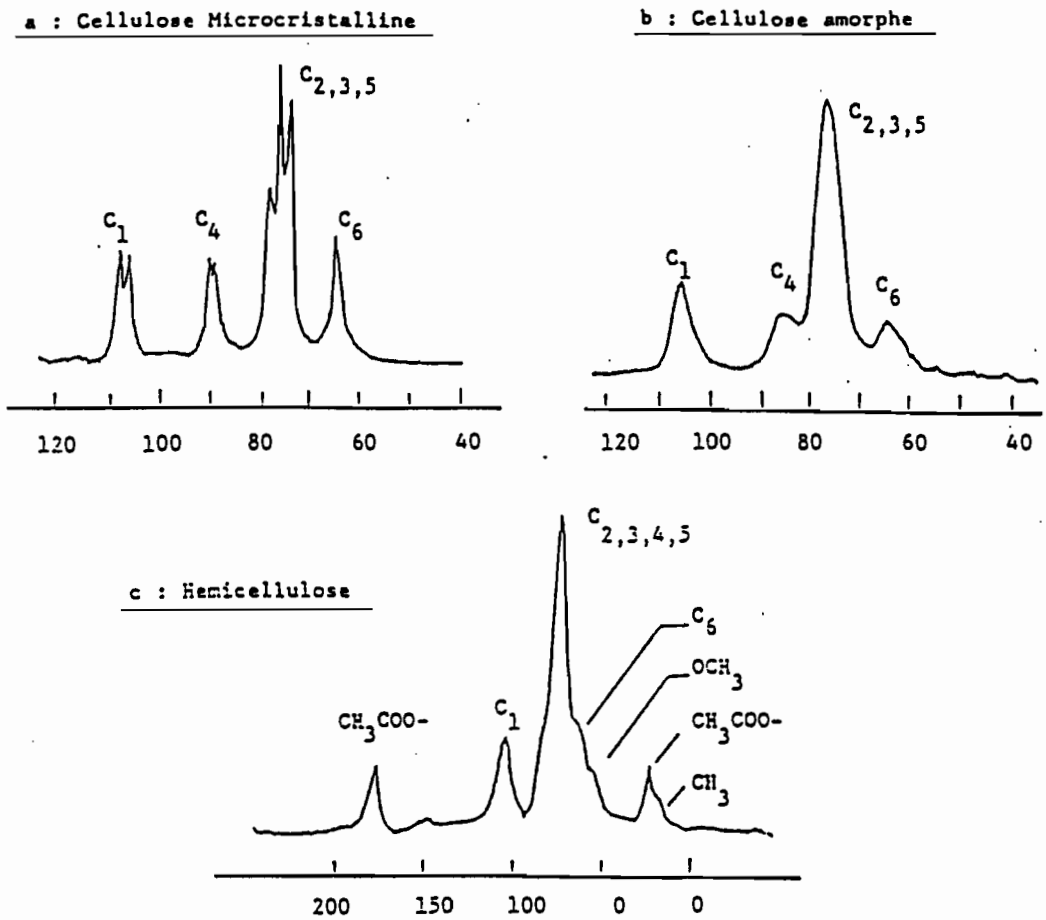


Figure 6 : Spectres RMN ^{13}C CP-MAS de Celluloses et Hemicelluloses
a et b d'après Atalla et al [57] c d'après Maciel et al [122]

Le matériau polysaccharidique qui subsiste dans le résidu d'hydrolyse acide doit avoir une composition et une structure plus homogènes que celui qui a passé dans l'hydrolysat.

Il est vraisemblablement constitué pour l'essentiel de cellulose présentant un degré de structuration macroscopique marqué -donc un nombre restreint de configuration et de conformations moléculaires et une proportion importante de liaisons H intermoléculaires (d'où sa relative résistance à l'hydrolyse)- et qui doit être en partie associée à la lignine (fibres ligno cellulosiques).

. L'épaulement (-8-) est bien individualisé sur ce spectre. Il présente deux maximas, respectivement vers 63 ppm et 68 ppm.

Si on se réfère au spectre de la cellulose amorphe il apparait que cet épaulement ne doit correspondre que pour partie aux signaux des C_6 du cycle glucopyranose.

Des groupements $-CH_2OH$ (ou esters) participant de constituants autres que les carbohydrates doivent y contribuer pour une part notable.

- Sur le spectre de l'Humine de précipitation l'empreinte de la bande (-12-) des carbones anomériques n'est plus décelable.

Nous montrerons plus loin que la teneur en carbohydrates ne doit pas dépasser 5 % (du C total) dans cet échantillon. Dans cette hypothèse 25 % au plus de l'aire du massif C correspond aux signaux de carbones participant de ces derniers.

Les groupements ether et esters doivent ici prendre une part prépondérante.

La bande (-9-) se résoud en deux composantes correspondant

. L'une à un groupe de signaux qui présentent une fréquence de distribution maximale dans la bande $68 < \delta < 72$ ppm et qui doivent correspondre, pour l'essentiel, à des groupements ether (les $>$CH-O-Ar des liaisons α-O-4, β-O-5 du motif structural de la lignine résonnent dans cette plage de δ).

. L'autre au groupe de signaux qui présentent une fréquence de distribution maximale dans la bande $73 < \delta < 78$ ppm et qui peuvent être associés aux $>$CH-OH des carbohydrates résiduels ainsi qu'à des groupements alkyl ether ($R-CH_2-O-CH_2-R'$).

L'analyse du spectre IR (voir figure 7) fournit des indices qui peuvent conforter ces interprétations.

. L'épaulement (-p"-), entre 1080 et 1140 cm^{-1} peut être associé, pour partie, aux bandes νC-O (intenses) des groupements alkyl ethers ($-CH_2-O-CH_2-$) et de la composante aliphatique ($-O-CH_2-$ ou $-O-CH<$) des aryl-alkyl ethers [123, 124].

Les bandes νC-O de la composante (Ar-O-) contribuent au massif d'absorption (-n'-), entre 1230 et 1270 cm^{-1} [124].

. L'épaulement (-q-), bien marqué entre 1150 et 1200 cm^{-1} correspond aux bandes νC-O d'esters aliphatiques saturés [124].

Les bandes νC-O des aryl-alkyl esters (Ar-COO-R) peuvent contribuer au massif (-n'-) entre 1270 et 1290 cm^{-1}. Les bandes νC=O de ces groupements contribuant, avec les bandes νC=O des -COOH aliphatiques au maximum d'absorption (-e-) entre 1710 et 1730 cm^{-1} [124].

Sur le spectre RMN les signaux des $-CH_2-$ (de l'alcool), en β du $-C\overset{O}{<}$, contribuant à l'épaulement qui double la bande (-9-) entre 58 et 66 ppm.

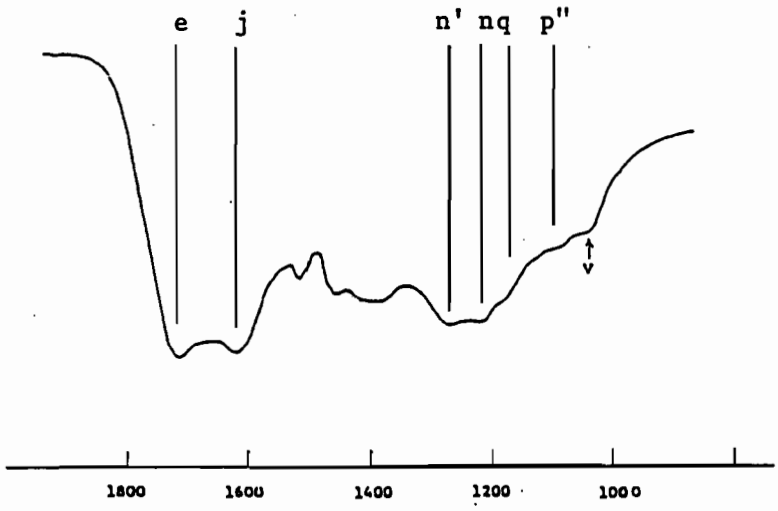


Figure 7 :
Podzol A_1
Humine de précipitation
Spectre IR

Domaine allant de 90 à 140 ppm

Dans cette plage de δ apparaissent l'essentiel des signaux des carbones sp^2 aromatiques (noyaux aromatiques, polyaromatiques, hétérocycles aromatiques) et oléfiniques (des motifs insaturés linéaires ou cycliques) non hétérosubstitués.

Ceux des Csp^2 aromatiques devant prendre la part relative la plus importante sur les spectres de nos échantillons.

Les maximas et épaulements, plus ou moins marqués selon les cas, qui s'individualisent au niveau du massif D sont plus difficile à assigner que ceux du domaine aliphatique du fait de la gamme très étendue de valeurs que peut prendre le δ des carbones aromatiques, en fonction des atomes et groupements auxquels ils sont directement liés et des substitutions que portent les autres Csp^2 du noyau.

— Les carbones aromatiques de type quaternaire - Csp^2 alkyle substitués ($Ar-CH_2R$ (ou Ar), Ar-CH(RR') ou (Ar R'), Ar-COOH (ou R), Ar-CONH-) ou aryle substitués (c'est-à-dire reliés à un Csp^2 d'un autre noyau), les Csp^2 communs à deux cycles adjacents (motifs polyaromatiques et hydroaromatiques)- ont des δ, de 2 à 20 ppm, plus élevés que leurs homologues protonés.

Ils exercent par ailleurs un léger effet blindant (Csp^2 portant des groupements alkyle non substitués) ou déblindant (Csp^2 portant des groupements carboxyle ou amide) sur le C en para.

— Les substituants "donneurs" -groupements oxycarbonés (-OH, -OR, $-OCH_3$) ou azotés ($-NH_2$, -N<)-exercent un effet blindant marqué sur les Csp^2 en ortho et para ($\Delta\delta$ de l'ordre de -7 à -16 ppm, $\Delta\delta$ étant généralement plus faible en para qu'en ortho) et un léger effet déblindant sur les Csp^2 en meta ($\Delta\delta$ de l'ordre de + 1 à + 3 ppm).

Schématiquement

+ Les signaux des carbones aromatiques protonés se situent, pour l'essentiel, dans la zone de δ inférieurs à 134 ppm [35, 45].

N.B. : Certains Csp^2 protonés d'hétérocycles aromatiques ont des δ > 135 ppm. La part prise par ces motifs dans le schéma structural des constituants organiques du sol est relativement réduite, comparativement à celle des motifs du type benzénique.

+ Les signaux qui apparaissent dans la plage de δ compris entre 135 et 145 ppm doivent correspondre en grande partie à des Csp^2 alkyle ou aryle substitués, en ortho ou para de C protonés ou eux même alkyl substitués ou en meta de Csp^2 hétérosubstitués.

NB : Des carbones aromatiques hétérosubstitués peuvent contribuer aux résonances dans cette plage de δ .

- Csp^2 oxygènes de motifs 1,2,3 hétérosubstitués. Tel est par exemple le cas de C4 phénoliques ou participant d'une liaison aryl-alkyl ether des unités de type syringyl (voir tableau TIII f).

Le matériau organique du Podzol étudié ici dérive d'une litière de conifères et d'Ericacées. La lignine de ces espèces est constituée quasi exclusivement d'unités structurales du type guaiacyl. La contribution de Csp^2 hétérosubstitués dans la zone de δ < 140 ppm doit être négligeable sur les spectres des trois fractions examinées ici.

+ Dans la zone de δ inférieurs à 112 ppm, la contribution des Csp^2 de type quaternaires devient relativement négligeable comme le confirmera plus loin l'analyse des spectres obtenus après déphasage dipolaire.

. Le massif de résonances, entre 90 et 112 ppm correspond pour l'esentiel aux signaux de carbones aromatiques protonés en ortho et en ortho et para de groupements oxycarbonés et azotés.

N.B. : Des Csp^2 ou Csp^3 de motifs hétérocycliques oxygénés du type flavonoïde, qu'on peut trouver en proportions non négligeable dans la fraction organique de certains sols, peuvent également contribuer à ce massif.

— Sur les spectres des lignines -qu'il s'agisse de lignine de conifères ou de lignine de feuillus- (voir figure 8) les signaux les plus marqués du domaine D (90-140 ppm) apparaissent dans cette plage de fréquences.

Ils sont associés aux Csp^2 (2 et 6) protonés des unités de type syringyl et aux Csp^2 (2 et 3) protonés des unités de type guaiacyl (voir tableau TIII).

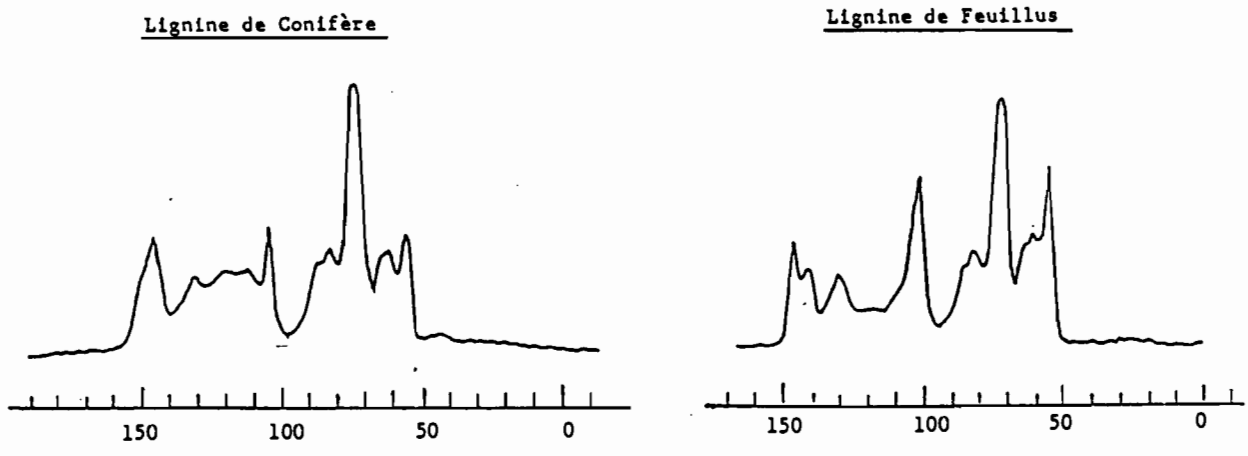


Figure 8 : Spectres RMN CP MAS de Lignines d'après Hatfield et al. [122]

. Le groupe de signaux qui se détache de ce massif entre 100 et 105 ppm (pic -12-) est associé aux Csp^3 anomériques des enchainements glycosidiques.

Les signaux du C_1, des oses et osides peuvent apparaître dans une bande de δ relativement large allant de 90 à 103 ppm (en relation avec la diversité de conformations que peuvent présenter les monomères et oligomères peu condensés).

+ Dans la plage allant de 114 à 135 ppm les domaines de résonances des Csp^2 protonés et quaternaires se recouvrent en grande partie. Le spectre est particulièrement complexe dans ce domaine où s'individualisent les signaux

- Des Csp^2 protonés des unités structurales aromatiques peu ou non substituées (noyaux benzéniques et motifs polyaromatiques protonés)
- De Csp^2 protonés en meta de groupements C(Ar)-OH, C(Ar)-O-R ou C(Ar)-OCH_3
- De Csp^2 protonés en ortho de C alkyle substitués ou en para d'un Csp^2 portant un groupement carboxyle.

. Les signaux de ces trois type de C présentent une fréquence de distribution maximale dans la zone de δ > 125 ppm.

- Des Csp^2 protonés en ortho de groupements C(Ar)-OH et C(Ar)-O-R et en para de groupements C(Ar)-OCH_3.

. Les signaux des C de ce type apparaissent surtout dans la zone de δ < 125 ppm.

- Les carbones aromatiques portant des groupements carboxyles (-COOH ou -COO-R) ou amide résonent, pour l'essentiel, dans une plage de δ allant de 115 à 135 ppm.

. dans le cas où les C en ortho ou para sont protonés ou alkyle substitués les signaux correspondants se situent surtout dans la zone de δ > 130 ppm

. dans le cas où les C en ortho ou para portent un groupement oxygéné ou azoté ces signaux apparaissent essentiellement dans la zone de δ < 125 ppm.

- Les Csp^2 alkyle ou aryle substitués en ortho de C(Ar)-OH ou C(Ar)-OCH_3 contribuent aux résonances dans la plage de δ compris entre 125 et 135 ppm (voir tableau TIII).

Les signaux des Csp^2 alkyle substitués en para d'un groupement oxygéné se situent pour l'essentiel dans la zone de δ allant de 130 à 140 ppm.

——> Une bonne partie des unités structurales aromatiques qu'on retrouve dans la matière organique des sols dérivent de la lignine.

Alors que sur les spectres des lignines les signaux les plus marqués du domaine D se situent, comme nous l'avons souligné, dans la plage de δ compris entre 100 et 115 ppm, sur les spectres des fractions organiques du sol (les hydrolysats mis à part), c'est en général les signaux de la bande 115 < δ < 135 ppm, qui sont les plus marqués.

Deux hypothèses peuvent être envisagées

- Le taux de fonctionalisation oxycarboné moyen des cycles aromatiques dérivant de la lignine diminue significativement lorsqu'ils sont incorporés dans la structure des macromolécules humiques.

La formation des condensats préhumiques à partir des unités structurales aromatiques provenant de la ligninolyse est en fait un processus oxydatif.

La proportion moyenne des carbones sp^2 portant un groupement oxygéné doit être du même ordre ou même plus élevée que dans la lignine. C'est la nature de ces groupements et leur position sur le cycle qui peut varier quelque peu.

De nouvelles liaisons C-C sont formées et la part que prennent les carbones de type quaternaire (Csp^2 alkyle substitués ou participant de motifs polycycliques) devient nettement plus importante que celle des Csp^2 protonés. Les signaux relativement les plus marqués du domaine D correspondent à ces carbones. (Ils apparaissent dans la plage de δ supérieurs à 117 ppm).

La comparaison des spectres CP-MAS et des spectres obtenus après déphasage dipolaire (CP-MAS-DD) conforte cette analyse.

- Sur le spectre de l'Humine de précipitation le massif D présente un maximum (-14-) très marqué vers 125 ppm.

Dans cette fraction la proportion de Csp^2 hétérosubstitués est de l'ordre de 21 %. Près de 50 % des Csp^2 contribuant au massif D sont de type quaternaire (comme le confirmera l'analyse du spectre obtenu après déphasage dipolaire).

Si on admet que la plus grande partie des Csp^2 participent d'unités structurales aromatiques on peut estimer qu'en moyenne

. au moins 3 carbones sur 6 sont de type quaternaire

. de l'ordre de 1 à 1,2 carbones sur 6 sont hétérosubstitués

. au maximum 2 carbones sur 6 sont protonés.

Une bonne partie des signaux de la bande $120 < \delta < 130$ ppm sont associés ici à des Csp^2 quaternaires, (alkyle substitués notamment) comme nous aurons l'occasion de le confirmer plus loin.

L'importance du massif F des $- C\overset{O}{<}$ suggère qu'il doit s'agir vraisemblablement, en grande partie, de Csp^2 portant un groupement carboxyle ou amide (en ortho et para de Csp^2 protonés ou en para de Csp^2 hétérosubstitués).

. Le groupe de signaux qui se détachent du massif de résonances "basal" entre 110 et 120 ppm et contribuent au maximum (-13-), centré autour de 116 ppm peut être associé à des Csp^2 protonés et des C(Ar)-COOH (ou R) en ortho de C(Ar)-OH.

- Sur le spectre du résidu d'hydrolyse le groupe de signaux qui se détachent du massif de résonances "basal" entre 120 et 130 ppm et contribuent à la bande (-14-) est relativement moins marqué que sur le spectre précédent.

On notera que parallèlement le pourcentage d'aire du massif F (résonances des $- C\overset{O}{<}$) est nettement plus faible sur le spectre de cette fraction que sur celui de l'Humine de précipitation (7 % contre 12 %).

La part relative que prennent les carbones du type C(Ar)-COOH (ou R) et C(Ar)-CO-NH- doit être plus réduite que dans cette dernière.

Ces types de C participent d'unités structurales ou de constituants qui sont extraits préférentiellement par la soude 0,1 N.

- La bande (-14-) présent ici deux maximas bien individualisés, centrés respectivement autour de 125 ppm (-14-) et de 132 ppm (-14'-).

Le spectre CP-MAS-DD de cet échantillon n'a pas été relevé. Nous ne disposons donc pas d'éléments permettant de préciser directement à quels types de Csp^2 (quaternaires ou protonés) sont associées préférentiellement ces deux composantes.

Dans le cas du sol Andique (où nous disposons des deux types de spectres) la contribution relative des signaux correspondant à des Csp^2 de type quaternaire, est nettement plus réduite dans le domaine des δ inférieurs à 127 ppm sur le spectre de l'Humine résiduelle que sur celui de l'Humine de précipitation.

Dans la bande $110 < \delta < 130$ ppm le spectre du résidu d'hydrolyse acide de l'Humine du Podzol présente la même allure générale que celui de l'Humine résiduelle du sol Andique.

On peut donc envisager que le groupe de signaux bien marqués qui contribuent au maximum (-14-) sur le spectre du résidu d'hydrolyse du Podzol doivent correspondre pour une bonne part à des Csp^2 protonés.

De même la bande (-13-) centrée autour de 114-116 ppm doit correspondre essentiellement à des Csp^2 protonés en ortho ou para de groupements oxycarbonés ($\geqslant$C-OH ou $\geqslant$C-OCH_3 et $\geqslant$ C-O-R).

L'Humine de précipitation n'est qu'une des composantes de cette fraction nous montrerons plus loin que la "lignine héritée" y prend encore une part importante.

- Sur le spectre de l'Hydrolysat, en dehors de la bande (-12-) des carbones anomériques, qui se détache nettement du massif de résonances "basal", ce dernier ne montre pas de maximas et épaulements bien individualisés.

Les Csp^2 doivent se distribuer ici entre un grand nombre d'environnements chimiques, très diversifiés, aucun ne prenant statistiquement plus d'importance que les autres.

Domaine allant de 140 à 160 ppm.

Dans cette plage de δ apparaissent l'essentiel des signaux des carbones sp^2 hétérosubstitués.

Dans la bande de δ allant de 140 à 145 ppm, s'y superposent les signaux de Csp^2 alkyle et aryle substitués, en ortho et para de Csp^2 protonés ou eux mêmes alkyle substitués.

Le δ des Csp^2 portant l'hétéroatome ou le groupement hétéroatomique est fonction de la nature de ces derniers ainsi que des substitutions que portent les autres C du cycle.

Les signaux correspondant à un groupement hétéroatomique donné vont donc se distribuer dans une plage de δ relativement large, en fonction de la nature des autres substituants et de leur répartition sur le noyau.

+ Schématiquement

- Si nous considérons d'abord le cas de noyaux monosubstitués

. les signaux des C(Ar)-OH se situent pour l'essentiel dans la bande de δ allant de 149 à 155 ppm

. ceux des C(Ar)-OCH_3, des C(Ar)-O-CH_2- et C(Ar)-O-CH< apparaissent dans une zone de δ plus élevés 156 < δ < 162 ppm

. les signaux des C(Ar)-O-Ar (groupements ether pontants) se situent à la limite de ces deux domaines : 154 < δ < 157 ppm

. les Csp^2 portant un atome d'azote ou un groupement azoté (C(Ar)=N-Ar C(Ar)-NH_2, C(Ar)-NHR, C(Ar)-N<) résonnent dans la plage de δ allant de 144 à 154 ppm.

- Les groupements oxygénés ou azotés en ortho ou para vont induire des $\Delta\delta$ allant de -4 à -9 ppm, pour les groupements en para, à -8 à -14 ppm, pour les groupements en ortho.

Les groupements en meta ont un effet légèrement déblindant ($\Delta\delta$ de + 1 à + 3 ppm).

+ Sur les spectres des fractions organique du sol

- Les signaux qui apparaissent dans la bande de δ allant de 156 à 162 ppm peuvent être associés.

.à des Csp^2 participant de groupements aryl-alkyl ether, en ortho et para de Csp^2 protonés ou alkyle(aryl)- substitués : C(Ar)-OCH_3, C(Ar)-OCH_2-, C(Ar)-O-CH< (groupements aryl-alkyle ether portés par des unités structurales aromatiques peu ou non substituées ou reliées entre elles par des pontages C-C)

. à certains Csp^2 d'hétérocycles oxygénés aromatiques ou hétéroaromatiques (voir flavonoïdes tableau T III g).

- Des Csp^2 participant de configurations et de motifs fondamentalement différents contribuent à la bande 138 < δ < 145 ppm.

. Csp^2 alkyle substitués ou aryle substitués (C(Ar)-Ar) en ortho et para de C protonés ou eux mêmes alkyle substitués (-C(Ar)-C en para de C(Ar)-COOH (ou R) ou de C(Ar)-CO-NH- notamment).

Motifs constitués de noyaux benzéniques protonés ou portant surtout des groupements carboxyles, reliés entre eux par des ponts C-C, -CH_2-, -CH- ou -NH-

. C(Ar)-OH ou C(Ar)-N comportant au moins deux groupements blindants en ortho (-OH ou -OCH_3)

Unités structurales aromatiques fortement (hétéro) substituées : polyphénols (du type 1,2,3), polyoxyphénols, motifs riches en -OCH_3 du type syringyl (voir tableau T III f).

- La bande 145 < δ < 156 ppm est particulièrement complexe. Peuvent y contribuer

. des groupements phénols : $\geqslant$C-OH en ortho et para de Csp^2 protonés ou alkyle substitués ou en meta d'un $\geqslant$C-OH ou d'un $\geqslant$C-OCH_3 (152 < δ < 156 ppm)

$\geqslant$C-OH en para de $\geqslant$C-OH ou de $\geqslant$C-OCH_3 (148 < δ < 152 ppm)

$\geqslant$C-OH en ortho de $\geqslant$C-OH ou de $\geqslant$C-OCH_3 (145 < δ < 149 ppm)

. des groupements aryl-alkyl ethers : $\geqslant$C-O-R en ortho de $\geqslant$C-OH ou $\geqslant$C-OCH_3 (Csp^2 participant des liaisons Cα-O-4 ou Cβ-O-4 du motif structural de la lignine des conifères)-(148 < δ < 152 ppm.

. des groupements aryl-aryl ether : $\geqslant$C-O-Ar en ortho et para de Csp^2 protonés ou alkyle substitués (154 < δ < 158 ppm).

. des groupements aryl-methoxy : $\geqslant$ C-OCH_3 des motifs syringyl (voir tableau T III)

. des groupements azotés : $\geqslant$C-NH_2, $\geqslant$ C-NHR et $\geqslant$ C-N$<$ en ortho et para de Csp^2 protonés ou alkyle substitués (147 < δ < 152 ppm) ou en para de

$\geqslant$C-OH, $\geqslant$C-OCH_3 ou $\geqslant$C-N (144 < δ < 148 ppm)

$\geqslant$C-N = Ar (pontages -N=) (δ < 150 ppm).

Pour différentier, au moins partiellement, les diverses contributions et situer leurs importances relatives dans le schéma structural il est nécessaire d'associer à la spectrométrie RMN des techniques de dérivatisation fonctionnelle : O-méthylation et acétylation, en l'occurence.

. La méthylation a pour effet, entre autres, de substituer les -OH phénoliques par des -OCH_3.

Si la part prise par les signaux correspondant aux C(Ar)-OH est importante au niveau du massif de résonances (148 < δ < 156 ppm), la bande (-7-) des (Ar)-OCH_3, centrée autour de 56 $\pm$ 2 ppm va être notablement renforcée.

Les signaux des Csp^2 qui portaient l'OH phénolique sont shiftés, de 5 ppm en moyenne, dans la direction du champ décroissant (renforcement des résonances dans la zone de δ > 155 ppm).

. L'acétylation substitue les -OH phénoliques par des groupements acétate.

Les signaux des Csp^2 qui portaient l'OH phénolique vont être ici shiftés de 4 à 5 ppm, dans la direction du champ croissant.

En comparant le spectre de l'échantillon non traité à ceux qu'on obtient respectivement après méthylation et acétylation on pourra se faire une idée de l'importance relative de la part que prennent les -OH phénoliques dans le schéma fonctionnel.

Ces techniques n'ont pas été mises en oeuvre dans le cadre de ce travail exploratoire.

Associées aux hydrolyses et fractionnements elles devraient ultérieurement permettre de lever un certain nombre d'indéterminations dans l'assignation de certaines bandes spectrales.

- Sur le spectre de l'Humine de précipitation un groupe de signaux bien marqués, centrés autour de 148 ppm (maximum -16-) se détachent nettement du massif de résonances basal du domaine E.

Ils doivent correspondre essentiellement à des C(Ar)-OH.

Le maximum d'absorption (-n'-) bien marqué entre 1255 et 1275 cm^{-1} sur le spectre IR de cette fraction (voir figure 7 p.21) peut être associé, en partie, aux bandes νC-O des groupements phénol et aryl methoxy. [123, 124]

Le fait que le maximum (-16-) soit situé entre 145 et 150 ppm indique que ces $\geqslant$C-OH doivent, en grande partie se trouver

. soit en para d'un autre Csp^2 hétérosubstitué ($\geqslant$C-OH ou $\geqslant$C-OCH_3)

. soit en ortho d'un $\geqslant$C-OH ou d'un $\geqslant$C-OCH_3 et en para d'un Csp^2 portant un groupement -COOH ou -CHO.

Ce dernier type de motif, qui s'apparente à des unités de type guaiacyl dont la chaine propylique a été remplacée par un groupement -COOH, doit prendre une part importante dans le schéma structural de la composante aromatique de cette fraction.

. La bande (-7-) qui se détache nettement du massif de résonances B, entre 55 et 58 ppm indique que la teneur $\geqslant$C-OCH_3 y rest appréciable. (L'épaulement (-17-), entre 152 et 157 ppm doit correspondre en partie aux signaux de ces $\geqslant$C-OCH_3).

. Nous avons souligné plus haut l'importance que doivent prendre les -COOH liés aux unités structurales aromatiques dans le schéma fonctionnel de cette fraction.

La plus grande partie des unités aromatiques qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation de ce sol doivent dériver de la lignine [3].

Les motifs guaiacyl qui se trouvent "libérés" après hydrolyse des liaisons aryl-alkyl ether ne subiraient ici qu'une transformation partielle (coupure oxydative des chaines propyliques qui sont remplacées par des -COOH) avant d'être incorporées dans la structure des macromolécules humiques.

La déméthylation doit intervenir essentiellement dans une deuxième étape.

Remarque : Nous avons évalué plus haut que dans cette fraction la proportion de Csp^2 hétérosubstitués ne devrait pas dépasser, en moyenne 1 à 1,5 sur 6.

On est donc amené à envisager qu'à côté des cycles fortement substitués de type guaiacyl on doit trouver des cycles protonés ou essentiellement alkyle substitués ne portant pratiquement pas d'hétéroatome.

- Sur le spectre du résidu d'hydrolyse acide, à la différence du précédent les signaux de la bande $140 < \delta < 145$ ppm sont aussi marqués que ceux de la bande $145 < \delta < 150$ ppm.

Ces signaux peuvent être associés

. à des Csp^2 liés à un atome d'azote ou un groupement NH (ponts = N- ou -NH-). En première analyse cette contribution devrait être relativement réduite, le C/N ne dépassant pas ici 40, à moins qu'une grande partie de l'azote qui n'a pas été

extrait par HCl concentré chaud participe de structures de ce type.

. à des Csp^2 participant de liaisons C-C (ponts $\gtrless$C-C$\lessgtr$, $-CH_2-$ ou $-\overset{|}{C}H-$) en ortho ou para de Csp^2 protonés ou eux mêmes alkyle substitués (motifs polyaromatiques peu ou non hétérosubstitués).

. à des $\gtrless$ C-OH de cycles fortement substitués (cyles 1,2,3 ou 1,2,4 hydroxyles). Les motifs polyhydroxylés des tannins (qu'on trouve en teneur appréciable dans le mor des Podzols) peuvent contribuer aux résonances dans cette bande de δ.

Les deux types de motifs devraient prendre une part non négligeable dans le schéma structural de l'Humine hydrolysée comme en témoignent

. l'épaulement (-5-) bien marqué entre 40 et 45 ppm (que nous attribuons aux $-CH_2-$ et -CH- pontants)

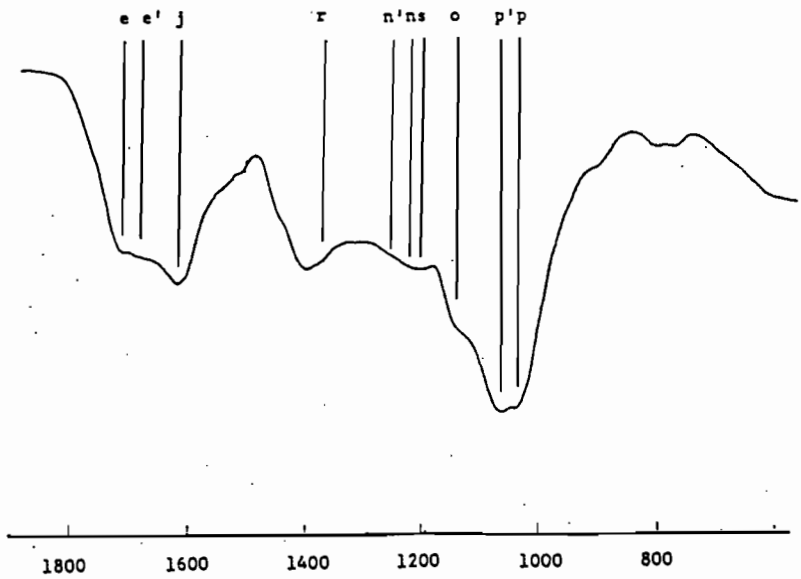
. le fait que, par rapport au spectre précédent, les signaux de la plage $100 < \delta < 115$ ppm sont ici relativement plus marqués.

- Sur le spectre de l'Hydrolysat, le groupe de signaux qui se détachent du massif de résonances "basal" pour former la bande (-16-), centrée ici autour de 151 ppm, doivent correspondre, pour l'essentiel, à des C(Ar)-OH.

La part prise par les $C(Ar)-OCH_3$ est relativement réduite dans cette fraction.

L'épaulement qui double la bande (-16-) entre 155 et 160 ppm peut être associé, pour l'essentiel, aux signaux de groupements C(Ar)-O-R (ponts ether reliant les composés phénoliques aux carbohydrates).

Le spectre IR de cette fraction est donné sur la figure 9.



. Les épaulements, faiblement marqués, (-n'-), entre 1250 et 1260 cm^{-1} et (-r-), entre 1360 et 1380 cm^{-1} peuvent être associés respectivement aux bandes νC-O et δOH des (C(Ar)-OH. |123|

Le maximum (-n-), entre 1215 et 1230 cm^{-1} doit essentiellement correspondre ici aux bandes νC-O et $\curlyvee$ C-CO-O des groupements acétate portés par les carbohydrates. |123|

Le maximum (-s-), entre 1190 et 1210 cm^{-1} pouvant être attribué aux bandes νC-O des groupements aryl-alkyl ether (C(Ar)-O-R). |123|

Le maximum (-e'-), entre 1670 et 1680 cm^{-1} indique la présence de groupements C(Ar)-COOH.

- La composante aromatique de cette fraction doit donc être constituée en grande partie de composés phénoliques et d'acides phénols associés aux carbohydrates-

Domaine allant de 160 à 220 ppm

Le déplacement chimique des $-C\overset{O}{<}$ est fonction du groupement dont ils participent et de la nature (saturée ou insaturée) des C auxquels ils sont liés.

Schématiquement

- Les carbones des $-C\overset{O}{<}$ participant de groupements $-COO^-$ ou -COOH montrent, toutes choses égales par ailleurs, des δ légèrement plus élevés que ceux participant de groupements esters, amide et anhydride.

Le déplacement chimique plus élevé du -COOH serait essentiellement lié à l'effet déblindant des liaisons H [45], particulièrement marquées en phase solide.

- Une conjugaison en α ou β a un effet blidant sur le $-C\overset{O}{<}$

Les groupements carboxyles ou amide liés à des Csp^3 non hétérosubstitués présentent des δ légèrement plus élevés que ceux qui sont liés à des Csp^2 aromatiques ou oléfiniques.

L'effet déblindant des $>CH-$ étant plus marqué que celui des $-CH_2-$, lui-même nettement plus marqué que celui des $-CH_3$ (groupements acétate).

- L'essentiel des signaux correspondant aux $-C\overset{O}{<}$ de groupements carboxyles et amide apparaissent dans la plage de δ allant de 160 à 185 ppm.

- Les signaux correspondant aux $-C\overset{O}{<}$ des quinones se concentrent dans la plage de δ allant de 175 à 190 ppm.

- Les $-C\overset{O}{<}$ des groupements aldehyde et cetone présentent les déplacements chimiques les plus importants.

. les signaux associés aux groupements aldehyde se situent généralement entre 190 et 205 ppm.

. ceux des groupements cetone dans la zone de δ supérieurs à 205 ppm.

- Sur l'ensemble des spectres deux ou trois composantes qui s'individualisent sous la forme de pics, maximas ou épaulements plus ou moins marqués, peuvent être différentiés au niveau du massif de résonances des carboxyles et amides entre 160 et 180 ppm.

Schématiquement

- Les signaux correspondant aux $-COO^-$ et -COOH portés par des motifs aliphatiques saturés linéaires (acides gras à longue chaine principalement) ou cycliques (acides uroniques en particulier) apparaissent, pour l'essentiel, dans la zone de δ supérieurs à 175 ppm ($175 < \delta < 184$ ppm).

- Les signaux qui contribuent aux pics et épaulements dans la zone de δ inférieurs à 167 ppm (-18-) sont associés surtout à des - $C\overset{O}{<}$ liés à des Csp^2 : groupements esters, amide et anhydride aromatiques ou oléfiniques, -COOH vicinaux des cycles 1,2 dicarboxylés.

- Dans la plage de δ allant de 166 à 175 ppm apparaissent les signaux

. des -COOH (autres que vicinaux) portés par les noyaux aromatiques

. des - $C\overset{O}{<}$ participant de groupements esters, amide et anhydride aliphatiques.

- Compte tenu de la diversité des groupements qui contribuent à cette "composante médiane", qui est en général la plus marquée du massif F, il est indispensable de recouper les données qu'on tire de l'analyse des spectres RMN avec celles fournies par les autres méthodes spectrométriques (IR, ESCA).

Une telle approche permet de "dissocier", dans une certaine mesure, les différentes contributions et de se faire une idée plus exacte de la part relative que doivent prendre les différents types de groupements considérés dans le schéma fonctionnel.

- Sur le spectre de l'Hydrolysat aqueux, les signaux les plus marqués du domaine F apparaissent dans la zone de δ supérieurs à 170 ppm...

Ils contribuent à la composante (-19"-), centrée autour de 175 ppm et qui peut être associée

. aux groupements -COOH des acides uroniques (signaux présentant une fréquence de distribution maximale dans la zone de δ > 175 ppm)

. à des -COOH liés aux noyaux aromatiques (signaux présentant une fréquence de distribution maximale dans la bande 170 < δ < 175 ppm).

Les indices que fournit le spectre IR (figure 9) tendent à confirmer l'importance que doivent prendre ces groupements dans le schéma fonctionnel de cette fraction : maximum d'absorption (-e-) marqué entre 1660 et 1680 cm^{-1} qu'on peut attribuer aux bandes νC=O des groupements -COOH aromatiques, épaulement (-t-) bien individualisé entre 890 et 940 cm^{-1} qui doit être associé, en partie aux bandes δOH hors du plan de ces groupements [123].

L'épaulement (-19-) qui double la bande (-19"-) entre 167 et 171 ppm doit correspondre, pour l'essentiel aux signaux des groupements acétate (CH_3COO-) des carbohydrates. La contribution des groupements amide doit être relativement réduite ici. Le spectre IR ne montre pas de bande Amide bien marquée.

. Le pic (-18-), centré autour de 164 ppm peut être associé à des Ar-COO CH_3 (le pic (-6-) bien marqué vers 50 ppm et qui est caractéristique du $-CH_3$ de ces groupements incite en effet à conclure qu'il ne doit pas s'agir d'un simple artefact dû au bruit de fond).

. Le groupe de signaux contribuant au massif (-21-) faiblement marqué entre 190 et 200 ppm indique la présence de groupements aldehyde.

- Sur le spectre de l'Humine de précipitation le massif F présente deux maximas, (-19'-), centré autour de 168 ppm, (-19-) centré autour de 172 ppm.

Par rapport au spectre précédent les signaux de la bande $166 < \delta < 170$ ppm sont relativement plus marqués ici.

Nous montrerons plus loin, en comparant les spectres des Humines de précipitation du Podzol, du sol Andique et de la Rendzine, dont les teneurs en azote diffèrent notablement que

. le groupe de signaux qui présentent une fréquence de distribution relativement plus élevée dans la zone de δ inférieur à 170 ppm et qui contribuent au maximum (-19'-) doivent essentiellement correspondre à des groupements amide et esters aliphatiques.

L'analyse du spectre IR (figure 7 p.21) indique que la part prise par les groupements amide ne devrait pas être très importante ici (le spectre ne comporte pas de bandes Amide nettement individualisées).

Une bonne partie de ces signaux peuvent donc être associés à des groupements esters aliphatiques. L'épaulement (-9-) bien marqué entre 1160 et 1190 cm^{-1} et le massif d'absorption (-n-), entre 1210 et 1240 cm^{-1}, sur le spectre IR, peuvent être attribués en grande partie, comme nous l'avons souligné plus haut aux bandes νC-O d'esters aliphatiques à longue chaine [124]. Une partie des bandes qui contribuent au massif (-e-), entre 1730 et 1770 cm^{-1} (qui se marquent par un léger épaulement) sont dues aux vibrations νC=O de ces groupements.

. Le groupe de signaux qui se "concentrent" dans la bande $170 < \delta < 175$ ppm et contribuent au maximum (-19-) doivent correspondre, pour l'essentiel aux -COOH portés par les noyaux aromatiques.

L'épaulement nettement marqué entre 2400 et 2700 cm^{-1} sur le spectre IR et qui est caractéristique des groupements -COOH [124] confirme l'importance que doivent prendre ces groupements (qu'ils soient associés à des motifs aliphatiques ou aromatiques) dans le schéma fonctionnel de cette fraction. Les signaux que nous attribuons aux -COOH aliphatiques et qui apparaissent pour l'essentiel dans la zone de δ supérieurs à 175 ppm sont nettement moins intenses que ceux de la bande $170 < \delta < 175$ ppm.

Une grande partie de l'acidité carboxylique doit être associée à la fraction aromatique.

Les signaux de la bande $160 < \delta < 166$ ppm, que nous assignons aux groupements amide, esters et anhydride aromatiques sont relativement plus marqués. La contribution des Ar-COO-R, doit être importante comme en témoigne le massif d'absorption (-n'-), bien marqué entre 1250 et 1280 cm^{-1} sur le spectre IR.

Les groupements quinone ($180 < \delta < 190$ ppm) et les groupements cétone ($\delta > 200$ ppm) ne prennent apparemment qu'une part négligeable dans le schéma fonctionnel de cette fraction.

L'épaulement qui double la bande (-19-), entre 180 et 190 ppm (zone de où apparaissent l'essentiel des signaux des groupements quinones n'est que faiblement marqué. On n'observe pratiquement pas de signaux nettement individualisés dans la zone de δ > 200 ppm.

. esters aromatiques. Cette contribution doit être importante ici comme en atteste l'épaulement (-18-) marqué entre 162 et 167 ppm sur le spectre RMN (épaulement que nous attribuons pour l'essentiel aux groupements esters et anhydride portés par les unités structurales aromatiques).

Des déterminations complémentaires combinant la spectrométrie IR et la dérivatisation fonctionnelle (amidation, saponification) devraient permettre de dissocier les contributions respectives des esters et -COOH et de tester la validité de l'interprétation que nous proposons.

- Le spectre du résidu d'hydrolyse, présente dans la plage de δ du domaine F, la même allure générale que celui de l'Humine de précipitation.

Le pourcentage de C participant de groupements carboxyles ou amide est ici beaucoup plus réduit et la bande (-19-) se détache moins nettement du massif de résonances "basal".

La part prise par les - $C\overset{O}{<}$ participant de groupements esters et anhydride aromatiques doit être relativement plus importante dans cette fraction que dans l'Humine de précipitation.

Dans la suite, pour commenter les spectres nous numéroterons les pics maximas et épaulements en fonction de leur position dans l'échelle des δ et des types de groupements qui peuvent leur être associés.

Les principaux types de groupements que nous individualisons et les numéros correspondants de leur empreinte spectrale sont donnés dans le tableau T IV .

- Déphasage dipolaire

Dans cette procédure on interrompt le découplage proton -^{13}C pendant un court laps de temps t_{DD} à la fin de la séquence de polarisation croisée avant d'effectuer l'acquisition. Pendant la séquence de déphasage la magnétisation des ^{13}C va décroître selon une loi exponentielle de la forme.

$$+ M_i(t_{DD}) = M_i o.\exp^{-t_{DD}/2T_{DD}^2}$$ dans le cas des carbones protonés

$$+ M_i(t_{DD}) = M_i o.\exp^{-t_{DD}/T_{DD}}$$ dans le cas des carbones non protonés et des $-CH_3$

La constante de temps T_{DD} est essentiellement déterminée par les interactions dipolaire hétéronucléaire, proton -^{13}C.

1	< 19 ppm	$-(CH_2)_n-CH_2-CH_3$, $R-CH(CH_3)-R'$	
2	20-28 ppm	$Ar-CH_3$, CH_3-COO- (Hémicelluloses), $-(CH_2)_n-CH_2-CH_3$, $-(CH_2)_n-CH(CH_3)_2$, $Ar-CH_2-CH_2-CH_3$ (chaînes courtes)	
3	30-34 ppm	$-(CH_2)_n-$, $R-CH-R'$: groupements alkyle à longue chaîne cyclanes, polycyclanes	
4	35-42 ppm	$Ar-CH_2-CH_2-(CH_2)_n-$, $-R-CH_2-COOH$(ou R') $Ar-CH_2-Ar$	
5	40-46 ppm	$Ar-CH_2-CH<$, $R-CH<^{R'}_{R''}$ (chaînes ramifiées) $Ar-CH_2-Ar$, $Ar-CH-Ar$ $-N<^{CH_3}_{CH_3}$, $-CH_2-NH_2$ (certains acides aminés)	
6	46-53 ppm	$-CH_2-N<$, $>CH-N<$ $-CH<$, $-C-$ (chaines fortement ramifiées) $Ar-CH-Ar$, $Ar-C-Ar$ $-COOCH_3$	
7	54-58 ppm	$Ar-OCH_3$, $R-OCH_3$ (> 57 ppm)	
8	58-68 ppm	$-CH_2OH$, C_6 (carbohydrates) $R-COO-CH_2-R'$ ($58 < \delta < 65$), $R-COO-CH<^{R'}_{R''}$ ($64<\delta<68$)	
9	70-80 ppm	$-CHOH$ $C_{2,3,5}$ (polysaccharides) éthers $R-O-R'$ alkyl-alkyléthers (9' côté $\delta\uparrow$) $Ar-O-R$ aryl-alkyléthers (9 côté $\delta\uparrow$)	
10	80-90 ppm	C_4 (polysaccharides : 85-89 ppm) $-COH$, $-C-O-R$	
11	95 ±2 ppm	$-C<^{O-}_{O-}$	
12	104 ± 2ppm	C_1 (carbohydrates : carbones anomériques)	
13	100-118 ppm	Csp^2 aromatiques, protonés ou alkyle substitués en ortho ou para d'un groupement oxycarboné (Ar-OH, Ar-O-R (ou Ar), $Ar-OCH_3$) ou azoté ($Ar-N<$) Csp^2 d'hétérocylces aromatiques en β par rapport à l'hétéroatome Csp^2 non aromatiques d'hétérocycles insaturés en β par rapport à l'hétéroatome	
14	125 - 130 ppm	carbones aromatiques protonés, alkyles substitués ou communs à deux cycles adjacents : 14 < 130 ppm dominante Ar - H 14'> 130 ppm Ar-R essentiellement	
15	140 - 150 ppm	$Ar-O-R$, $Ar-N<$	
16	148 - 155 ppm	Ar - OH ou Ar - O - Ar	
17	155 - 162 ppm	$Ar-OCH_3$	
18	160 - 167 ppm	$-C<^{O}$ des esters, anhydrides et amides aromatiques	
19'	168 - 175 ppm	amides, esters et anhydrides aliphatiques $Ar-COOH$, $Ar-COO^-$	
19"	> 175 ppm	$R-COOH$, $R-COO^-$	
20	178 - 205 ppm	quinones, $-C<^{O}_{CH_3}$	
21	190 - 205 ppm	groupements aldéhydes	
22	> 200 ppm	groupements cétone	

Tableau T IV

Elle dépend aussi, dans une moindre mesure, de la mobilité du groupement dans lequel est engagé le ^{13}C et de la diffusion de spin, plus ou moins rapide, au sein de la matrice correspondante. Dans la matière organiques des sols cette dernière peut varier notablement d'un type de constituant à l'autre comme nous aurons l'occasion de le souligner plus loin.

Globalement :

+ Les carbones liés directement à un proton vont déphaser plus rapidement que les carbones de type quaternaires (particulièrement les sp^2 quaternaires des noyaux polyaromatiques, éloignés des protons).

+ Dans le cas des $-CH_3$ c'est la rotation rapide de ce groupement autour de l'axe C_3 qui réduit l'interaction dipolaire proton $-^{13}C$.

Dans certaines molécules simples, de symétrie élevée, les groupements méthylène et métine peuvent avoir un comportement analogue à celui des $-CH_3$ [37].

Si t_{DD} est suffisamment long, au moment où intervient l'acquisition, la magnétisation des ^{13}C directement liés à un proton, sauf le cas particulier des $-CH_3$, aura diminué dans des proportions telles que les signaux de résonances correspondants ne se différentient pratiquement plus du bruit de fond.

Celle des carbones $-CH_3$ et surtout des carbones quaternaires, ayant diminué dans des proportions moindres, seuls les signaux correspondant à ces types de carbones subsistent.

En comparant le spectre "conventionnel" et le spectre obtenu après déphasage dipolaire, il est possible de différentier les carbones protonés et quaternaires et de se faire une idée de la contribution des groupements $-CH_3$ et des groupements non protonés respectivement au niveau des massifs de résonances des carbones aliphatiques, entre 5 et 90 ppm, et aromatique, entre 90 et 140 ppm.

A titre d'illustration sur les figures (10) et (11) nous comparons deux spectres obtenus respectivement avec et sans déphasage.

Assignation des "signaux résiduels"

Domaine des carbones sp^3

- Le massif de résonances entre 40 et 65 ppm correspond aux signaux

. de carbones quaternaires ne portant pas d'hétéroatome ou de groupements $-CH_3$ vicinaux (-C- de chaines aliphatiques fortement ramifiées ou de motifs polycycliques)

. de $-CH_3$ participant de groupements oxygénés ou azotés

- OCH_3, entre 55 et 60 ppm (-7b-)
- $COOCH_3$ autour de 50 $\pm$ 2 ppm (-6b-)
- $N(CH_3)_2$ entre 46 et 52 ppm (-5b-)

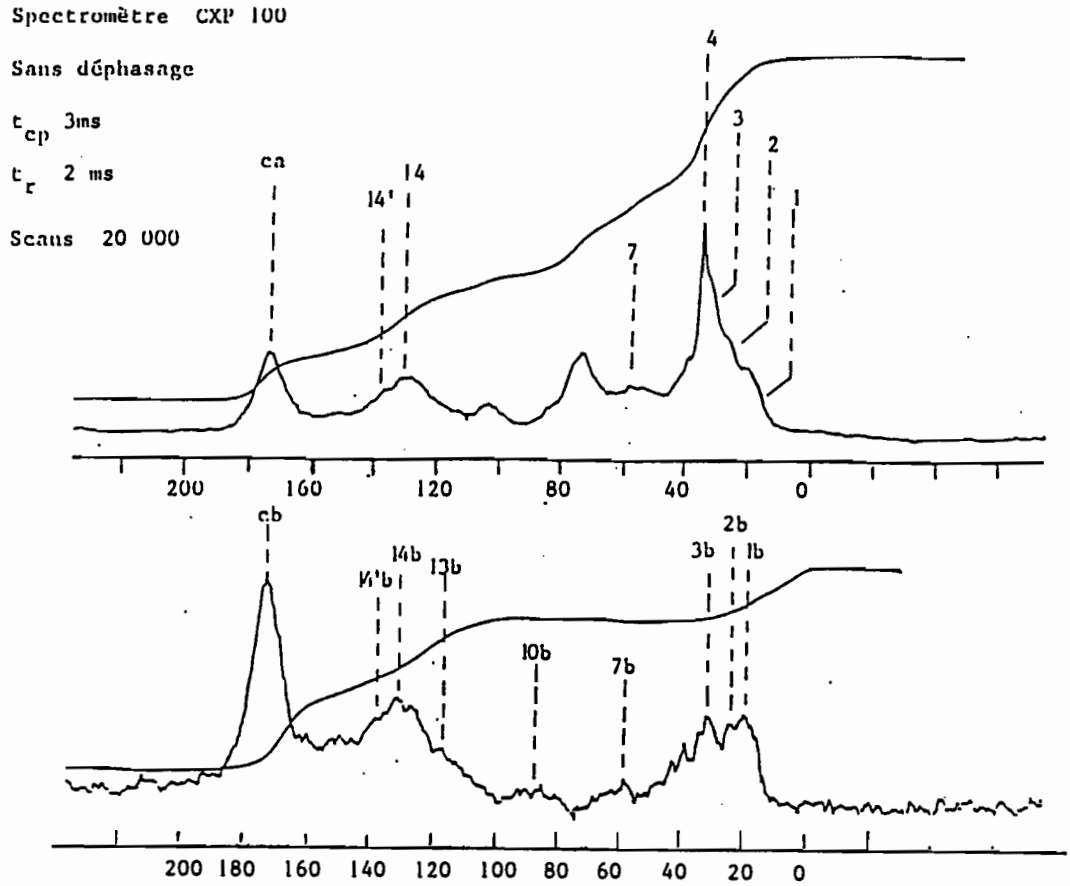


Figure 10 : Sol Andique (15-25 cm) - Acides Humiques NaOH

- Les signaux résiduels qui subsistent après déphasage, entre 65 et 70 ppm peuvent être associés à des carbones quaternaires portant un atome d'azote ou un groupement azoté.

- Le massif (-10b-) faiblement marqué entre 80 et 100 ppm correspond aux carbones quaternaires participant de groupements oxygénés.

- Les signaux les plus intenses qui subsistent après déphasage dipolaire dans le domaine des C aliphatiques se situent dans la plage de δ allant de 5 à 45 ppm.

Ils correspondent

. aux $-CH_3$ terminaux et iso des chaines alkyliques (massif -Ib- entre 5 et 20 ppm)

. aux $-CH_3$ portés par les noyaux aromatiques, aux $-CH_3$ des groupements acétate et aux $-CH_3$ vicinaux portés par les groupements méthine terminaux des chaines alkyliques (épaulement -2b- entre 20 et 25 ppm)

. aux $-CH_3$ vicinaux des groupements tert butyle terminaux et des groupements $-C(CH_3)_2-$ des chaines alkyliques (bande -3b- entre 29 et 34 ppm). Les C quaternaires de ces groupements résonent dans la même plage de fréquences.

N.B. : La bande (-3b-) ne doit être due ici que pour partie aux signaux des $-CH_3-$ et -C- de ces groupements.

Dans les échantillons contenant une forte proportion d'enchainements $-(CH_2)_n$, des signaux résiduels de $-CH_2-$ doivent y contribuer encore pour une part non négligeable.

La constante d'atténuation T_{DD} de ces groupements se situe entre 12 et 29 μs [35, 56]. Un déphasage de seulement 50 μs ne doit pas permettre de réduire ces signaux dans une proportion telle qu'ils ne se différencient pratiquement plus du bruit de fond.

Tel doit être le cas ici des acides Humiques NaOH (bande (-3-) très marquée sur le spectre CP-MAS).

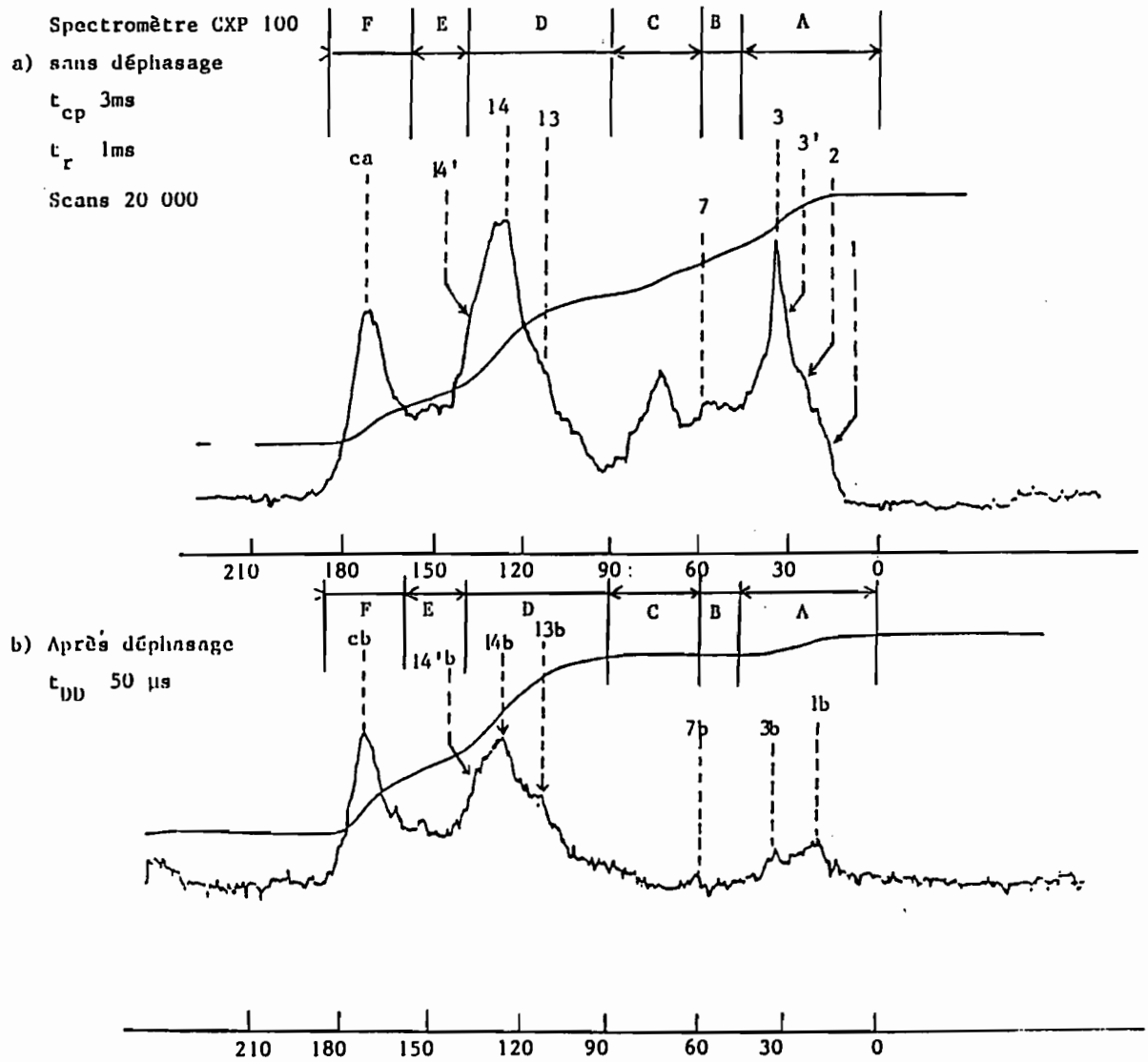


Figure 11 : Sol Andique (15-25 cm) Acides Humiques Pyro

Domaine des carbones sp^2

- Le massif de résonances "résiduelles" entre 100 et 145 ppm peut être subdivisé en quatre domaines, assez bien individualisés et dont les pourcentages d'aire varient relativement d'une fraction à l'autre. (voir figure 12)

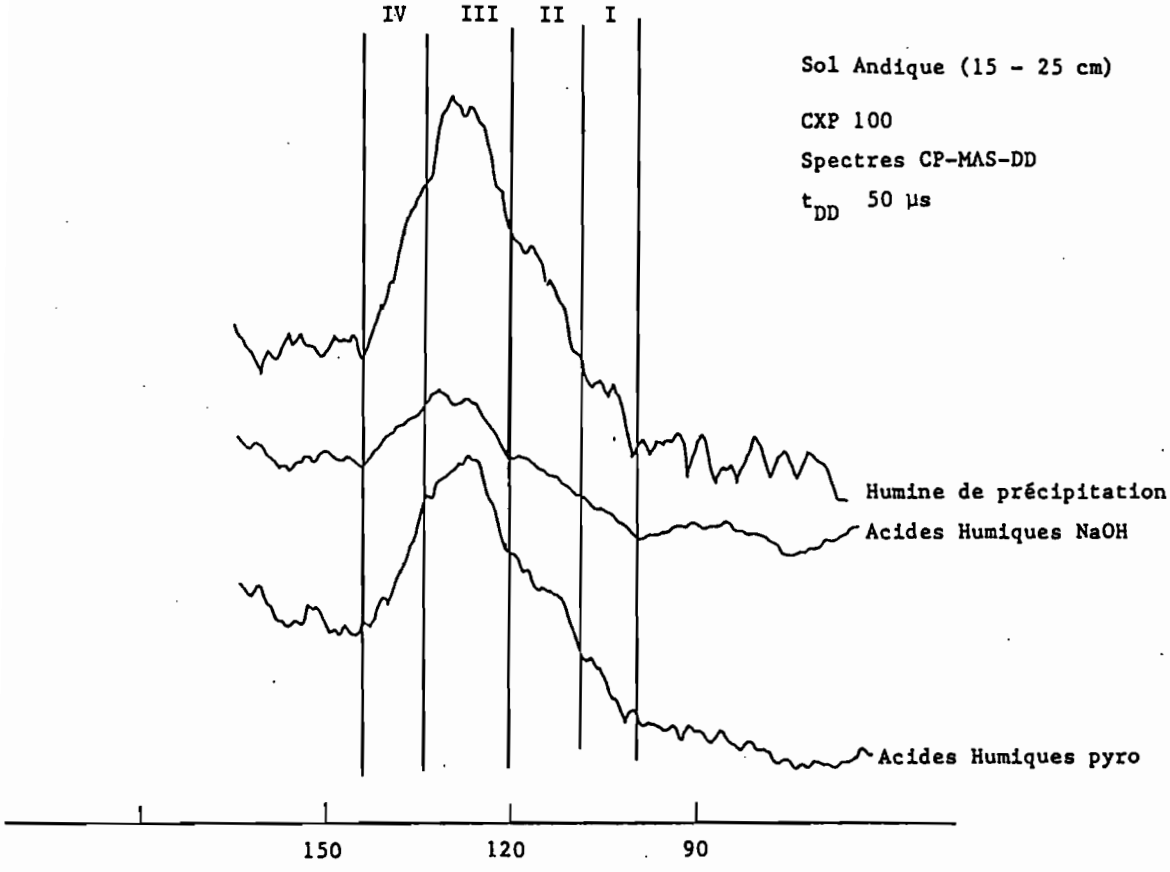


Figure 12

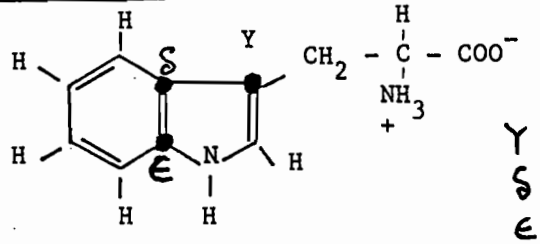
Ils peuvent être associés respectivement.

I, entre 100 et 112 ppm, aux C quaternaires participant de groupements ou motifs fortement hétérosubstitués

. carbones sp^3 quaternaires des groupements cetals : (R, R')-C<O -, O -

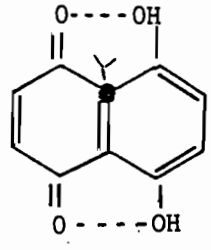
. carbones sp^2 quaternaires de noyaux hétéroaromatiques ou hydroaromatiques dont les deux C adjacents sont hétérosubstitués, C quaternaires de certains hétérocycles.

Tryptophane [119 - p.421]



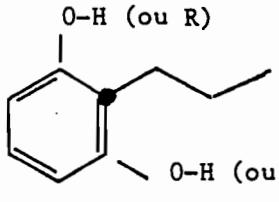
γ : 112 ppm
δ : 128 ppm
ε : 135-142 ppm

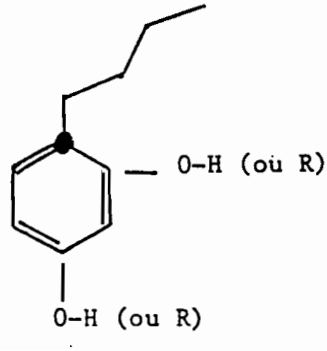
Naphtazarine [119- p.417]



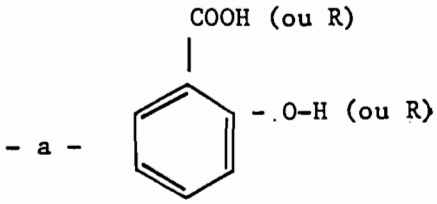
γ : 112 ppm

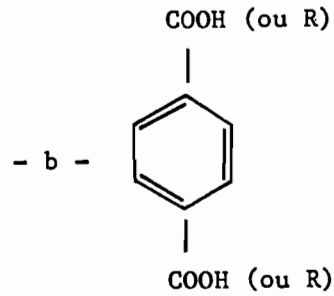
II, entre 112 et 120 ppm, à des Csp^2 alkyle substitués dont les deux C vicinaux portent chacun un O ou qui se trouvent en ortho et para de Csp^2 hétérosubstitués





aux Csp^2 portant un groupement -COOH ou COOR, en ortho d'un carbone hétérosubstitué (-OH ou OCH_3) - a -

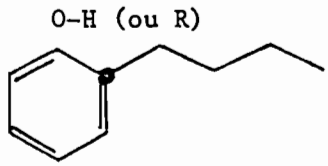


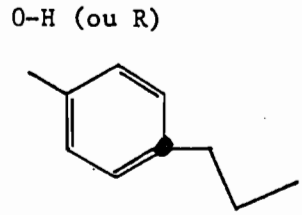


<u>III entre 120 et 136 ppm</u> : aux Csp^2 portant un groupement - COOH ou -COOR dont les deux carbones adjacents sont tous deux protonés (les signaux correspondants se situent dans le domaine de $\delta > 130$ ppm) ou dont le carbone en para est hétérosubstitué - b - (et dont les signaux se situent dans la bande $120 < \delta < 128$ ppm)

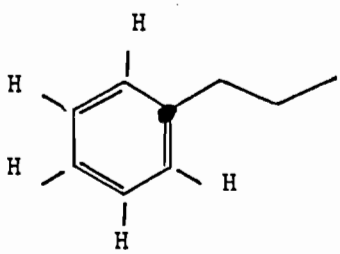
aux Csp^2 portant un groupement -COOH ou - COOR un para d'un carbone portant lui même un tel groupement (les signaux correspondants se situent dans la bande ($134 < \delta < 138$ ppm)

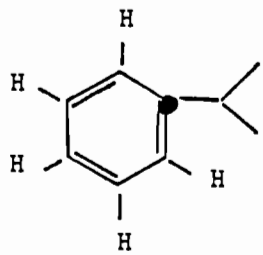
aux Csp^2 alkyle substitués en ortho ou para d'un carbone hétérosubstitué.

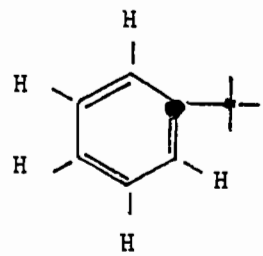




<u>IV, entre 136 et 145 ppm,</u> aux Csp^2 alkyle subtstitué en ortho de C protonés







Remarque : - les carbones sp^2 des motifs polycondensés ont un caractère aromatique un peu moins prononcé que ceux des noyaux benzéniques isolés |55|.

Ces carbones peuvent contribuer aux "résonances résiduelles" du domaine III.

N.B. : - Les radicaux libres stables présents dans la fraction organique des sols sont surtout localisés sur les noyaux aromatiques |89|.

Les doublets non appariés modifient le champ local au niveau des ^{13}C situés dans leur voisinage immédiat et déplacent les raies de résonances correspondantes. Des signaux de Csp^2 non protonés qui normalement devraient se situer dans le domaine IV peuvent ainsi apparaître dans les domaines III ou II, ou inversement.

En résumé

- Dans les différentes études de la matière organique des sols par spectrométrie RMN ^{13}C-CP-MAS dont nous avons fait mention en introduction on s'est en général borné à individualiser 4 à 5 domaines spectraux, c'est-à-dire à différentier quelques formes de Carbones (-carbones aromatiques et aliphatiques, carbones non substitués et carbones fonctionalisés-) et à évaluer leurs importances relatives.

Ces travaux ont, entre autres, mis l'accent sur la part que prennent les constituants aliphatiques dans le schéma structural alors qu'il était généralement admis jusqu'à alors que la matière organique des sols était essentiellement de nature aromatique.

- Les trois spectres auxquels nous nous sommes référés, à titre d'exemples, ainsi que l'ensemble de ceux que nous aurons l'occasion d'analyser dans la suite montrent que, dans chacun de ces domaines, des groupes de signaux plus intenses et qui se "concentrent" dans des plages de δ relativement étroites et bien délimitées, se détachent d'un massif de résonances "basal" sous la forme de bandes, maximas ou épaulements plus ou moins marqués.

— En exploitant ces "empreintes" il est possible d'afiner la caractérisation et d'obtenir des informations sur la structure du squelette carboné et la composition fonctionnelle des constituants organiques du sol.

— Le problème est de les assigner sans ambiguité.

Le matériau étudié étant extrêmement hétérogène et complexe on ne dispose pas ici d'échantillons types, dont la composition et la structure auront été déterminées par ailleurs, à partir desquels on pourrait établir des spectres de référence et assigner directement les différentes composantes.

On est donc contraint de se référer à des tables de corrélations, établies à partir de constituants simples (le plus souvent en phase liquide) et aux spectres de biopolymères de structure définie (celluloses, lignines, protéines lipides) qui entrent dans la constitution du matériau primaire dont dérivent les constituants humiques mais qui, dans nos échantillons, sont déjà plus ou moins fortement dégradés.

Une telle approche implique une part non négligeable d'interprétation et d'hypothèses.

— Il est cependant possible de lever bon nombre d'ambiguités

. en s'appuyant sur les données complémentaires qu'apporte le déphasage dipolaire

. en confrontant les interprétations que l'on tire de l'analyse du spectre RMN avec les informations et indices que peuvent fournir les autres techniques spectrométriques (IR, ESCA)

. en associant la spectrométrie RMN et la dérivatisation fonctionnelle

Ainsi : - En comparant le spectre CP-MAS-DD et le spectre CP-MAS conventionnel (soustraction de spectres après normalisation) on peut notamment

. dissocier la contribution des groupements $-CH_3$ de celle des $-CH_2-$ et $>CH-$ (au niveau des composantes (-2'-) et (-2"-) et apprécier le degré de ramification des motifs aliphatiques

. évaluer la part que prennent les carbones sp^2 non protonés dans les différents domaines de la plage de δ allant de 100 à 145 ppm et se faire, entre autres, une idée

* de l'importance des groupements carboxyles liés aux unités structurales aromatiques

* du degré d'association (pontages, polycondensation) de ces dernières.

- En se référant au spectre IR il est possible de situer la part relative que doivent prendre

. les signaux correspondant aux $>CHOH$ et $-CH_2OH$ des carbohydrates au niveau du massif de resonances des groupements O-alkyle

. les signaux associés aux groupements amides au niveau du massif de résonances des $-C\lessgtr^{O}$

Pour ce qui est de dissocier et de situer les contributions respectives

. des groupements -COOH, esters et anhydrides au niveau du massif de résonances des carboxyles

. des -OH aliphatiques, groupements ether et esters au niveau du massif de résonance de O-alkyle

l'analyse du spectre IR, dans le domaine des bandes ν C=O et ν C-O (entre 1400 et 900 cm^{-1}) peut fournir au plus des indices pouvant aller plus ou moins dans le sens des hypothèses proposées, plutôt que des confirmations proprement dites.

Les domaines dans lesquels apparaissent les bandes ν C-O des différents types de groupements oxycarbonés se recouvrant en grande partie, des groupements de types très différents peuvent contribuer à chacun des maximas d'absorption et épaulements qu'on peut individualiser sur le spectre IR dans cette zone de δ .

- C'est en combinant spectrométrie et dérivatisation fonctionnelle (O-méthylation et O-acétylation entre autres) qu'on pourra obtenir le plus d'informations complémentaires et qu'il sera possible d'arriver à une meilleure caractérisation de la composition fonctionnelle.

. La méthylation qui substitue, l'ensemble ou une partie (selon la procédure mise en oeuvre) des -OH et -COOH par des $-OCH_3$ et $-COOCH_3$ devrait permettre

- de dissocier la contribution des -OH phénoliques de celles des Ar-O-Ar, groupements azotés aromatiques et des $-OCH_3$ en ortho d'un autre groupement oxycarboné dans le domaine $145 < \delta < 155$ ppm.

Cette approche a été utilisée par Hatfield et al [22] dans le cas des lignines

- de dissocier la contribution des esters de celle des -OH liés aux motifs aliphatiques saturés et des ethers, dans la bande de δ allant de 63 à 80 ppm

- dans les fractions "solubles" (acides humiques et fulviques, hydrolysats Humines de précipitation), de dissocier la contribution des -COOH de celle des esters (autres que méthyliques) au niveau du massif de résonances des - C=O

. l'acétylation qui substitue les -OH phénoliques et alcooliques par un groupement CH_3COO- devrait permettre

- comme la méthylation, de différentier les phénols des autres groupements oxycarbonés aromatiques

- de dissocier la contribution des esters de celle des -OH et groupements ethers au niveau massif C ($63 < \delta < 80$ ppm).

III. Exploitation quantitative des spectres - Evaluation de l'importance relative de différents groupements carbonés

Elle se base sur l'hypothèse que le nombre de carbones d'un type donné est proportionnel à l'intensité du signal RMN correspondant :

Ceci implique :

- que les bandes de résonances des groupements dont on cherche à déterminer la teneur soient suffisamment bien résolues
- qu'il n'y ait pas d'interactions dipolaires parasites qui peuvent provoquer des déplacements ou un élargissement anormal des raies - interactions dûes à des centres paramagnétiques ou des radicaux libres, par exemple-.
- que l'intensité du signal de résonances des ^{13}C ne dépende pas de l'environnement chimique dans lequel il est placé.

Dans quelle mesure ces conditions se trouvent-elles, ou peuvent-elles être remplies dans le cas de nos échantillons ?

1 - Les spectres ne comportant pas de bandes complètement résolues, nous nous sommes bornés à évaluer l'importance relative de chacune des six "formes" de carbones que nous différentions dans un premier temps.

Pour cela, nous comparons l'aire du massif de résonances correspondant (limité par les deux droites qui bornent le domaine de δ considéré) à l'aire du spectre total entre 0 et 200 ppm -Pourcentage d'aire-

Nous avons vu que chacune de ces "formes" prend en compte des groupements et des environnements chimiques très diversifiés.

Les quelques bandes mieux marquées qu'on peut individualiser à l'intérieur de chaque domaine ne se démarquant que partiellement du massif de résonances, il n'est pas possible d'apprécier de façon précise quel pourcentage d'aire correspond à chacune d'elle.

Les informations qu'on obtient de cette façon peuvent donc comporter une marge d'incertitude appréciable.
Ainsi les taux d'aromaticité qu'on détermine sur la base du pourcentage d'aire du massif de résonances allant de 92 à 140 ppm risquent d'être systématiquement surévalués dans la mesure où

+ les carbones sp^2 non aromatiques sont pris en compte avec ces derniers
+ dans les échantillons riches en carbohydrates il est difficile de faire la part de ce qui revient exactement aux carbones anomériques.

Il en est de même pour les teneurs en carbohydrates qui sont estimées à partir du pourcentage d'aire du massif de résonances $C(60 < \delta < 92$ ppm).

Les résonances correspondant aux groupements oxycarbonés des constituants humiques (ether, esters, alcool) étant prises en compte avec celles des carbones 2-6 du cycle des hexoses.

2 - <u>Les bandes de rotation (side bands) qui sont générées dans certaines conditions expérimentales -lorsque la vitesse de rotation du rotor (exprimé en k Hz) devient inférieure à l'anisotropie du déplacement chimique- peuvent constituer une autre source d'erreur.</u>

Une partie de l'intensité du signal de résonance se retrouve dans ces raies satellites qui sont décalées de plusieurs dizaines de ppm par rapport à la raie principale. Ainsi une fraction de l'aire des bandes de résonance correspondant aux carbones sp^2 peut se retrouver dans des bandes de rotation qui contribuent au massif de résonance des carbones sp^3.

Les vitesses de rotation que nous avons mises en oeuvre -3,5 à 4 k Hz- sont suffisamment élevées, comparativement au champ directeur des spectromètres utilisées, pour éviter l'apparition de ces bandes.

Lorsqu'on utilise des appareils à haut champ -300 ou 400 M Hz- les vitesses à mettre en oeuvre sont beaucoup plus élevées. De l'ordre de 14 à 16 M Hz, dans le cas d'un spectromètre opérant à 300 M Hz.

Jusqu'à un passé récent ces conditions étaient techniquement irréalisables.

Depuis deux ans des sondes permettant de dépasser des fréquences de 15 k Hz sont commercialisées.

On pourra donc à l'avenir tirer profit de la sensibilité et de la résolution accrues qu'apportent les champs intenses produits par les aimants supraconducteurs sans perdre la possibilité d'exploiter quantitativement les spectres obtenus, dans ces conditions, à partir d'échantillons complexes.

3 - Certains sols contiennent des teneurs élevées de Fer, sous forme "libre" c'est-à-dire à l'état d'oxydes ou d'oxyhydroxydes (hématite dans les sols fersialitiques et ferrugineux tropicaux, goethite dans les sols Ferrallitiques) ou sous forme complexée (complexes humi-ferrugineux de l'horizon spodique des Podzols).

Dans les sols dérivés de matériaux volcaniques ou de roches ultra basiques on peut même trouver des teneurs non négligeables de magnétite.

L'hématite et la goethite sont faiblement ferromagnétiques (ferromagnétisme parasite). Dans les complexes organo minéraux une fraction au moins du fer est à l'état paramagnétique.

. Les composés ferromagnétiques perturbent localement le champ magnétique et déplacent les raies de résonance des ^{13}C voisins.

S'ils sont présents en concentration notable ils vont entrainer un élargissement de l'ensemble des bandes du spectre et une réduction très marquée du rapport signal/bruit.

. Les centres paramagnétiques diminuent fortement les temps de relaxation des atomes diamagnétiques situés dans leur voisinage immédiat.

— Dans un échantillon homogène, à rapport H/C élevé, la diffusion de spin est suffisamment rapide et uniforme pour que l'ensemble des protons constituants voient leurs temps de relaxation modifiés en gros les mêmes proportions. Ainsi en ajoutant des traces de Cu^{2+} ($\leq$ 0,4 %), Ganapathy et al [49] ont pu réduire notablement le temps de relaxation spin-reseau (T_{1H}) moyen des protons de certaines biomolécules et donc le temps de recyclage minimum à mettre en oeuvre pour obtenir des spectres RMN exploitables quantitativement, ceci sans déplacement appréciable des raies correspondantes compte tenu des faibles teneurs de Cu^{2+} mises en oeuvre.

— Dans les sols, les centres paramagnétiques ne sont pas distribués de façon homogène. Compte tenu de la complexité et de l'hétérogénéité macroscopique du substat, la diffusion de spin n'est pas uniforme. Les temps de relaxation proton-reseau T_{1H} et proton en système tournant $T_{1\rho H}$ des différents constituants peuvent être affectés de façon inégale.

Les constituants hydrophiles-carbohydrates, polyeptides- sont plus sensibles, toutes choses égales par ailleurs, au "dopage" paramagnétique que les constituants aliphatiques à longue chaine, hydrophobes [32].

Les protons et les ^{13}C des groupements fonctionnels oxycarbonés qui interviennent dans la complexation du fer verront leurs temps de relaxation modifiés dans des proportions plus importantes que les protons et ^{13}C des chaines $-(CH_2)-_n$, des cycles benzéniques et surtout des noyaux polyaromatiques.

Enfin les centres paramagnétiques peuvent, comme les composés ferromagnétiques, provoquer des déplacements de raies et réduire fortement le rapport signal/bruit s'ils sont en concentration notable.

— Dans le cas des échantillons à forte teneur en fer, les informations d'ordre quantitatif que l'on tirera des spectres obtenus par la technique d'impulsion et de polarisation croisée risquent donc d'être quelques peu sujettes à caution. —

Les trois sols que nous avons étudiés contiennent moins de 2 % de fer total. Les effets paramagnétiques ne doivent donc jouer qu'un rôle négligeable ici.

4 - La polarisation croisée consiste en un transfert de magnétisation des protons aux ^{13}C suivant un processus caractérisé par une constante de temps T_{CH} -le temps de polarisation croisée.

Pour un carbone donné T_{CH} est fonction de sa distance r_{C-H} aux protons les plus proches : $T_{CH} \approx 1/r^6_{(C-H)}$

Les différents types de carbones de nos échantillons ne polarisent donc pas à la même vitesse.

Ainsi les carbones sp^3 des chaines et cycles aliphatiques polarisent nettement plus vite que les carbones sp^2 benzéniques, les carbones quaternaires et surtout les carbones sp^2 des noyaux polyaromatiques.

T_{CH} dépend également de la mobilité du groupement dans lequel est engagé ce carbone.

Ainsi dans le cas des carbones sp^3 du groupement méthyle nous avons vu que l'interaction dipolaire proton-^{13}C est réduite par la rotation rapide de ces groupements.

Dans la fraction organique des sols la distribution spatiale des protons est très inhomogène. Le rapport H/C diffère fortement d'un type de constituant à l'autre- certains constituants ont des H/C (atomiques) nettement inférieurs à 1.

— Le choix des conditions expérimentales -combinaison temps de contact temps de recyclage- joue un rôle déterminant. —

— On pourrait penser, à priori, qu'il suffit de choisir des temps de contact suffisamment longs, $t_{cp} >> T_{CH}$, pour être sûr que l'ensemble des ^{13}C de l'échantillon ont atteint un degré de polarisation maximum.

— En fait, en même temps qu'il y a transfert de polarisation du "réservoir proton" vers le "réservoir ^{13}C", du fait de l'entrée en jeu des processus de relaxation, les magnétisations protons et ^{13}C décroissent chacune selon une loi exponentielle de constantes de temps respectives $T_{1\rho H}$ et $T_{1\rho C}$.

. La magnétisation M_i correspondant à un type de carbones donné (i), estimée à partir du pourcentage d'aire de la raie de résonance correspondante, évolue en fonction du temps suivant une loi de la forme

$$Mi(t) = M_i o \left[1 - \exp^{-\lambda t_{cp}/T_{CH}}\right] \exp^{-t_{cp}/T_{1\rho H}}$$

où t_{cp} : représentent le temps de contact : temps pendant lequel est appliquée l'impulsion rf à la fréquence des ^{13}C, pendant la phase de verrrouillage de la magnétisation proton (spin lock)

$M_i o$: représente la magnétisation limite : magnétisation qu'on observerait au bout d'un temps de contact très court, $t_{cp} \approx 0$, si le transfert de polarisation proton $\longrightarrow$ ^{13}C était quasi instantané

T_{CH} : représente le temps de polarisation croisée des carbones considérés

$T_{1\rho H}$: représente le temps de relaxation spin-resean des protons système tournant

$T_{1\rho}C$: représente le temps de relaxation spin-resean des ^{13}C en système tournant

$$\lambda = 1 + \frac{T_{CH}}{T_{1\rho C}} - \frac{T_{CH}}{T_{1\rho H}}$$

T_{CH} est généralement court vis à vis des temps de relaxation spin-reseau, donc $\lambda = 1$.

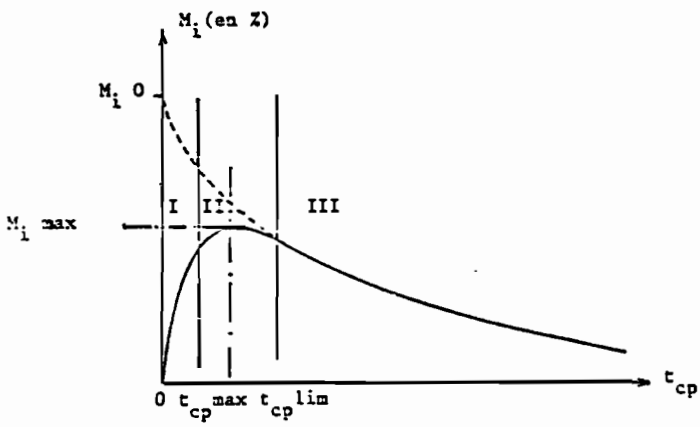
L'expression de M_i (t) devient dans ces conditions

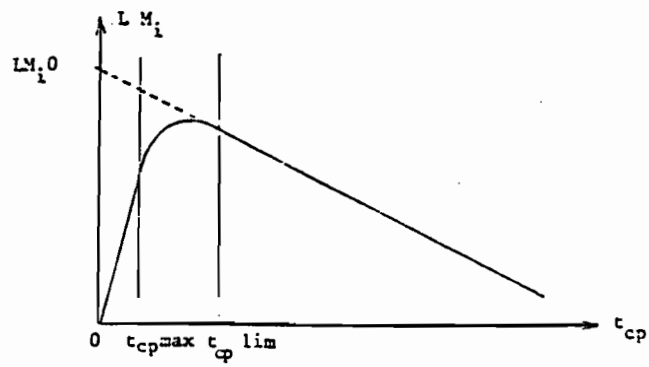
$$M_i(t) = M_i o \left[1 - \exp^{-t_{cp}/T_{CH}}\right] \exp^{-t_{cp}/T_{1\rho H}}$$

ou

$$L\ M_i = \frac{1}{T_{1\rho H}}\ t_{cp} + L\ M_i o + L\ (1 - \exp^{-t_{cp}/T_{1\rho H}})$$

Les tracés respectifs $M_i(t) = \varphi\ (t_{cp})$ et $L\ Mi = \psi\ (t_{cp})$ sont de la forme





+ Pour des temps de contact très court, t_{cp} de l'ordre de T_{CH}, l'effet relatif de la relaxation des protons reste pratiquement négligeable.

$M_i(t)$ est essentiellement conditionné par le temps de polarisation croisée du type de carbones considéré.

La magnétisation croit très rapidement lorsque le temps de contact augmente

- zone I -

+ A partir d'une certaine valeur de t_{cp}, l'effet de la relaxation spin-reseau des protons commence a se faire sentir.

La magnétisation passe par un maximum, $M_i max$, puis se met à décroitre

- zone II -

+ Au delà d'un certain temps de contact, $t_{cp} lim$, $M_i(t)$ finit par être entièrement déterminé par la relaxation des protons.

- zone III -

Dans cette zone la loi décrivant l'évolution de la magnétisation en fonction de t_{cp} se réduit à la forme

$$M_i(t) = M_i o.\ \exp^{-t_{cp}/T_{1\rho H}}$$

ou

$$L\ M_i(t) = -\frac{1}{T_{1\rho H}}\ t_{cp} + L\ M_i o$$

Le tracé correspondant (pointillé dans les zones II et I) coupe l'axe des ordonnées en un point qui correspond à la magnétisation limite $M_i o$ de la forme de carbone considérée.

- Pour qu'il y ait proportionalité entre l'intensité des raies de résonance et la concentration des formes de carbone correspondantes, il faut que ces dernières aient toutes atteint un taux de polarisation optimum avant que la relaxation des protons ne devienne notable ; c'est-à-dire que la condition $T_{CH} << t_{cp} << T_{1\rho H}$ soit effectivement remplie pour chacune d'elles.

Si (i) et (j) représentent deux de ces "formes", M_i et M_j les pourcentages d'aire des bandes ou massifs de résonance correspondants, $M_i o$ et $M_j o$ leurs magnétisations limites, lorsque ces conditions se trouvent effectivement remplies les rapports M_i/M_j et $M_i o/M_j o$ sont du même ordre. Il faut donc que cette égalité soit vérifiée pour toutes les formes de C que nous différentions.

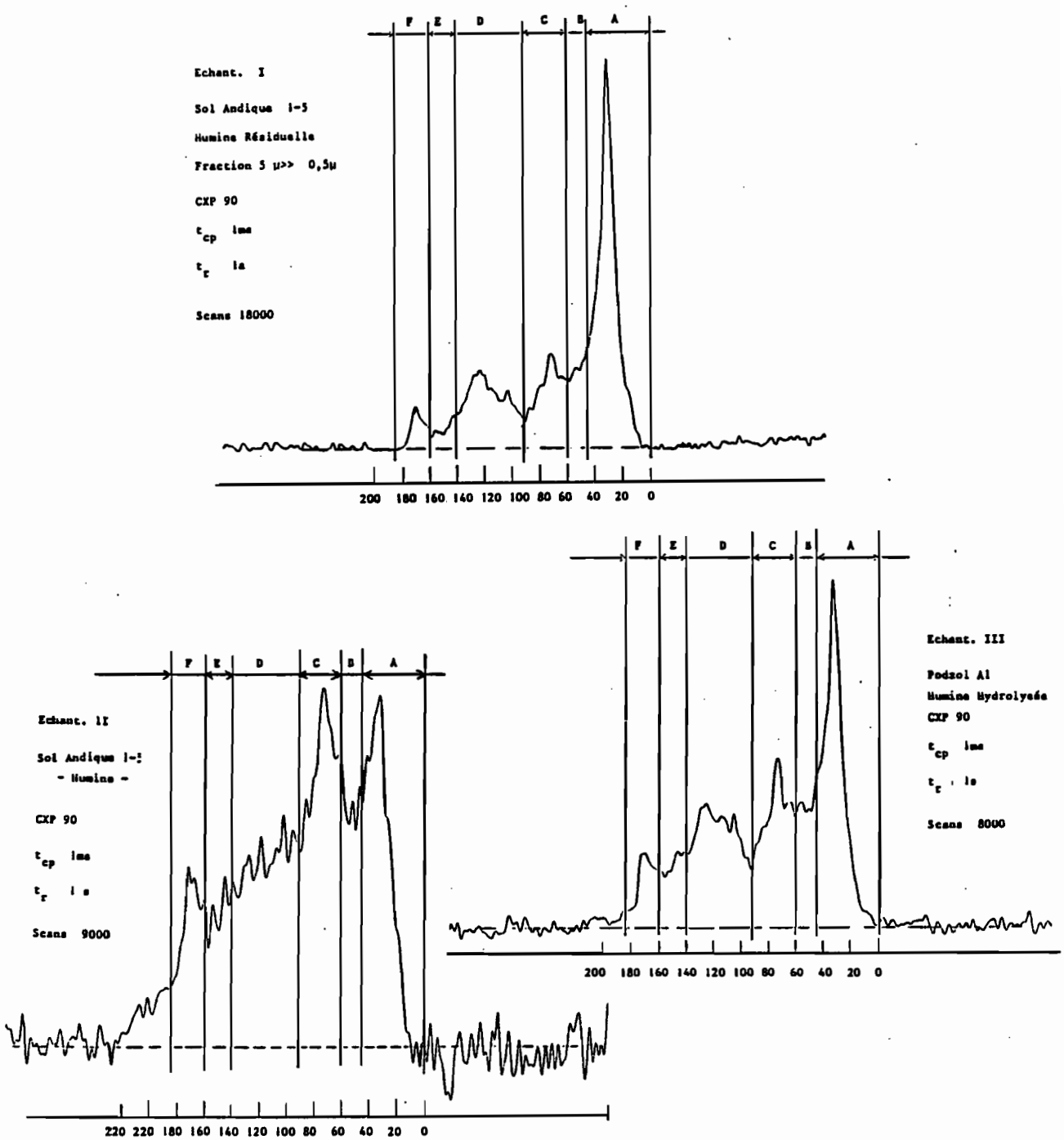
- Afin de définir le temps de contact optimal pour nos échantillons nous avons, dans un premier temps, déterminé les ordres de grandeur des $T_{1\rho H}$ et $M_i o$ correspondants.

A cet effet nous avons suivi l'évolution de la magnétisation M_i correspondant à chacune des six formes de carbones définie plus haut, en fonction du temps de contact t_{cp}, sur trois échantillons différents.

I - fraction fine (5 μ >> 0,5 μ) de l'Humine résiduelle du sol Andique (horizons de surface A_o entre 0 et 5 cm)

II- Humine du même sol, avant fractionnement

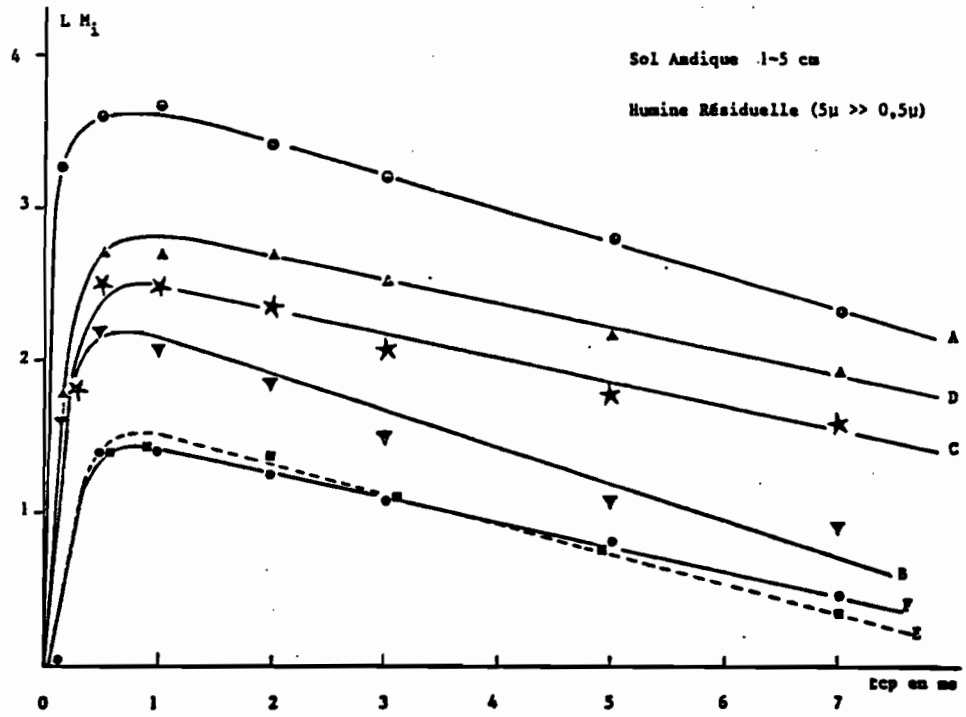
III - Résidu restant après hydrolyse aqueuse et acide de l'Humine du Padzol.
Les spectres correspondants sont représentrés sur la figure (13)
(Il s'agit ici des spectres obtenus dans les conditions suivantes : temps de contact 1 ms, temps de recyclage 1 s).

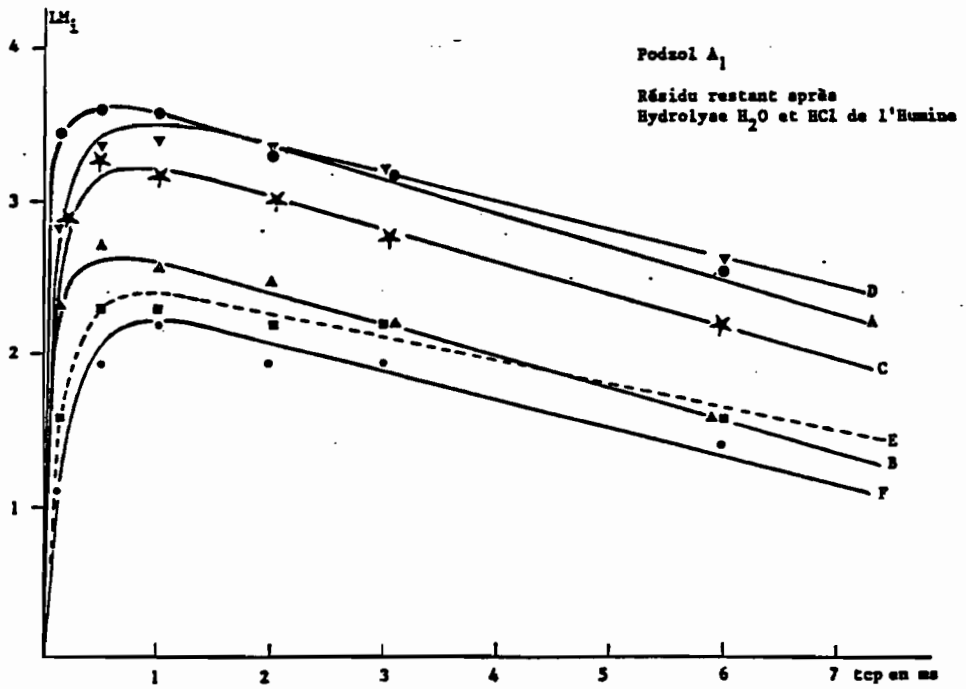


Pour chaque échantillon les spectres successifs, -à t_{cp} croissant- ont été relevés dans les mêmes conditions (même nombre de balayages).

Les valeurs de M_i ainsi obtenues, pour six ou sept temps de contact différents sont consignées dans les tableaux (TIIa) donnés en annexe.

Les graphes $L\,M_i = \psi(t)$, pour les six domaines spectraux considérés, sont représentés sur la figure (14).





— Le temps de contact minimum à partir duquel on peut considérer qu'on se trouve pratiquement dans la zone III, c'est-à-dire à partir duquel le tracé $L\,M_i = \psi(t_{cp})$ peut être assimilé à une droite, se situe entre 1 et 2 ms. —

Les magnétisations limites $M_i(o)$, ainsi que les temps de relaxation spin-reseau du proton, en système tourant, $T_{1\rho H}$ ont été estimé, par ajustage de moindres carrés, à partir des valeurs de M_i ($t_{cp} > 2$ ms).

Les résultats sont consignés dans le tableau (T IV).

Tableau IV.

Echant.	Paramètre	Forme de Carbone					
		A	B	C	D	E	F
I	t_{max} : ms	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,5	1,2 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1,5 ± 0,5
	$M_i(o)$: ua	46,211 (0,053)	9,838 (0,330)	14,003 (0,110)	18,432 (0,187)	5,239 (0,119)	4,724 (0,014)
	$T_{1\rho H}$: ms	4,613 (0,070)	4,525 (1,145)	6,030 (0,363)	7,080 (0,768)	5,478 (0,516)	6,505 (0,094)
II	t_{max} : ms	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	1 ± 0,5	1,2 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1,2 ± 0,5
	$M_i(o)$: ua	29,166 (0,184)	15,796 (0,228)	36,870 (0,237)	35,585 (0,040)	12,202 (0,185)	16,387 (0,285)
	$T_{1\rho H}$: ms	4,567 (0,499)	4,496 (0,437)	3,534 (0,228)	4,725 (0,071)	6,463 0,875	3,587 0,622
III	t_{max} : ms	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,7 ± 0,5	1,4 ± 0,5	1,8 ± 0,5	1,2 ± 0,5
	$M_i(o)$: ua	42,892 (0,223)	16,634 (0,165)	29,954 (0,128)	38,056 (0,283)	12,173 (0,227)	10,339 (0,175)
	$T_{1\rho H}$: ms	5,060 (0,431)	5,021 (0,419)	4,984 (0,265)	6,217 (0,850)	7,092 (1,348)	6,425 (0,876)

Les écarts types sont donnés entre parenthèses

- Dans l'ensemble des domaines considérés le maximum de magnétisation est atteint pour des temps de contact t_{cp} < 2 ms.

Conformément à la théorie, t_{max} est nettement plus faible pour les carbones protonés que pour les autres types de carbones.

. Contrairement à ce qu'on pourrait déduire de la seule observation des valeurs du tableau (IV) les carbones sp^2 protonés doivent atteindre leur magnétisation maximale pour des temps de contact inférieurs à 1 ms.

Nous avons vu en effet qu'à côté des Csp^2 protonés des Csp^2 de type quaternaire contribuent au massif de résonances du domaine D.

Ceci explique que le t_{max} correspondant, qui est en fait une valeur moyenne tenant compte de ces deux types de contribution soit nettement plus élevé que celui des Csp^3 protonés du domaine B.

Les valeurs correspondantes du domaine E donnent une idée de l'ordre de grandeur effectif du t_{max} du Csp^2 quaternaires.

. Pour un domaine donné on notera que t_{max} varie assez peu d'un échantillon et d'une fraction à l'autre.

- Par contre, les temps de relaxation $T_{1\rho H}$ diffèrent quelque peu d'un domaine à l'autre, et, dans un domaine donné, d'un échantillon à l'autre -valeur la plus faible 3,5, valeur la plus élevée 7,1-

. Dans les échantillons I et III (fractions d'humine obtenues après hydrolyse acide) $T_{1\rho H}$ est plus faible pour les protons proches de carbones sp^3 que pour ceux qui sont proches de carbones sp^2 (Csp^2 protonés et quaternaires ne sont pas différentiés ici).
Cette observation rejoint les résultats obtenus dans le cas des charbons [58,60].
La différence est nettement moins marquée dans le cas de l'échantillon II.

On notera que le $T_{1\rho H}$ moyen dans le domaine C est également plus faible que dans les deux autres fractions.

Cet échantillon contient encore des teneurs élevées de carbohydrates.

La diffusion de spin, qui conditionne $T_{1\rho H}$, doit être plus rapide dans les carbohydrates que dans les constituants humiques ou non humiques qui contribuent aux résonances dans cette plage de fréquence par leurs groupements esters et ethers. Pfeffer et al [32] ont montré que le temps de relaxation $T_{1\rho H}$ des constituants aliphatiques à longue chaines (lipides) est trois fois plus élevé que celui des carbohydrates.

La contribution des carbones anomériques au niveau du massif de résonances du domaine D est plus importante dans le cas de l'échantillon II que dans les deux autres. Ceci pourrait expliquer que le $T_{1\rho H}$ correspondant est significativement plus faible.

. Une tendance similaire se retrouve dans le domaine F. Les protons proches des carboxyles relaxent nettement plus vite dans l'échantillon II que dans les deux autres.

L'humine du sol Andique est plus riche en constituants azotés que les deux fractions d'Humine hydrolysées -son rapport C/N est de l'ordre de 18,9 contre 41 dans l'Humine hydrolysée du Podzol et 53,2 dans l'Humine résiduelle du sol Andique.

Une proportion notable des signaux qui contribuent au massif de résonances des carboxyles, dans l'échantillon II, doivent correspondre aux groupements amide des chaines protéiques, qui, comme les carbohydrates, ont des $T_{1\rho H}$ relativement bas [32].

- Si les $T_{1\rho H}$ étaient les mêmes dans chacun des six domaines considérés, il suffirait de choisir un temps de contact suffisamment long pour être sûr que la condition $M_i/M_j = M_io/M_jo$ se trouve effectivement vérifiée.

Tel n'étant pas le cas, il s'agit de déterminer un temps de contact optimal pour lequel on s'en rapproche le plus.

Dans le tableau (V) les pourcentages d'aire % $(M_i)t_{cp}$ des six massifs de resonances, pour les différents temps de contact mis en oeuvre, sont comparés aux pourcentages d'aires limites % $(M_i)o$ correspondants.

Tableau V: Expérience de Polarisation partielle.

Echant. I. Sol Andique 1-5 Humine résiduelle (5μ > > 0,5μ)

t_{cp} \ $Z(M_i)_{t_{cp}}$	$Z(M_A)_{t_{cp}}$	$Z(M_B)_{t_{cp}}$	$Z(M_C)_{t_{cp}}$	$Z(M_D)_{t_{cp}}$	$Z(M_E)_{t_{cp}}$	$Z(M_F)_{t_{cp}}$
0,1	57,7	11,1	13,3	13,3	2,2	2,2
0,5	47,6	10,7	14,3	17,8	4,8	4,8
1	46,2	10	15	18,7	5	5
2	43,2	9,3	15,1	21,6	5,7	5
3	43,6	8,2	14,5	22,7	5,4	5,4
5	42,2	7,9	15,8	22,4	5,8	5,8
7	37	9,2	16,65	25,9	5,2	5,9
$Z(M_i)o$	46,9Z	10 Z	14,2	18,7	5,3	4,8

Echant. II. Sol Andique 1-5 Humine

t_{cp} \ $Z(M_i)_{t_{cp}}$	$Z(M_A)_{t_{cp}}$	$Z(M_B)_{t_{cp}}$	$Z(M_C)_{t_{cp}}$	$Z(M_D)_{t_{cp}}$	$Z(M_E)_{t_{cp}}$	$Z(M_F)_{t_{cp}}$
0,1	25,9	13,6	27,2	21	6,2	6,2
0,5	26,8	12,95	23,1	21,3	7,4	8,3
1	19,8	10,3	24,1	25	9,5	11,2
2	21,25	10,6	24,45	24,45	9,55	9,55
3	19,4	12,5	25	26,4	9,7	6,9
6	21,0	10,5	22,5	26,3	13,1	10,5
$Z(M_i)a$	19,6	10,6	25,2	23,9	8,2	11,0

Echant. III. Podzol Humine Hydrolysée

t_{cp} \ $Z(M_i)_{t_{cp}}$	$Z(M_A)_{t_{cp}}$	$Z(M_B)_{t_{cp}}$	$Z(M_C)_{t_{cp}}$	$Z(M_D)_{t_{cp}}$	$Z(M_E)_{t_{cp}}$	$Z(M_F)_{t_{cp}}$
0,1	37,6	11,75	21,2	20,0	5,9	3,5
0,5	29,8	12,1	21,0	23,4	8,1	5,6
1	29,5	10,65	19,65	24,6	8,2	7,35
2	25,7	11,4	20,0	27,6	8,55	6,7
3	27,45	9,9	17,6	27,45	9,9	7,7
6	26,0	10,0	18,0	28,00	10,0	8,0
$Z(M_i)o$	28,6	11,1	19,95	25,35	8,1	6,9

$$Z(M_i)_{t_{cp}} = \frac{M_i}{\Sigma_i \; M_i} \times 100 \qquad Z(M_i)o = \frac{M_i o}{\Sigma_i \; M_i o} \times 100$$

En examinant ce tableau on constate que le temps de contact optimal pour les échantillons étudiés se situe entre 0,5 et 2 ms. L'écart entre % $(M_i)t_{cp}$ et % $(M_i)o$ est en général inférieur à 5 % lorsque t_{cp} est égal à 1 ou 2 ms. —

Pour chaque échantillon on a donc systématiquement relevé deux spectres, à t_{cp} = 1 ms et t_{cp} = 2 ms. On s'est assuré chaque fois que l'écart entre % $(M_i)_{t_{cp} = 1 \text{ ms}}$ et % $(M_i)_{t_{cp} = 2 \text{ ms}}$ n'excédait jamais 5 % afin de tester s'il n'y avait pas de modification significative de $T_{1\rho H}$ dans certaines fractions, ou simplement une erreur de mesure eventuelle.

Les pourcentages de carbones d'un type donné ont été évalués en faisant la moyenne entre les % $(M_i)_{t_{cp} = 1 \text{ ms}}$ et % $(M_i)_{t_{cp} = 2 \text{ ms}}$ correspondants. Nous estimons l'erreur maximale sur les valeurs ainsi obtenues à $\pm$ 3 %.

N.B. : Cette procédure a été appliquée à tous les échantillons qui ont été analysés à l'aide su Spectromètre CXP90 (c'est l'appareil qui a été utilisé pour effectuer les expériences de polarisation partielle). Un temps de contact de 3 ms a été utilisé pour les spectres qui ont été relevés à l'aide du CXP100 (appareil sur lequel ont été conduit les expériences de déphasage dipolaire).

- Temps de recyclage t_r : Il doit être suffisamment long pour que l'ensemble des composantes du "réservoir proton" puissent effectivement revenir à l'équilibre thermique avant que soit mis en route une nouvelle séquence d'impulsions.

Augmenter t_r revient à allonger le temps d'occupation du spectromètre ce qui constitue un inconvénient majeur lorsqu'il faut effectuer entre 10000 et 20000 accumulations comme c'est le cas pour la plupart de nos échantillons.

On admet en général qu'un temps de recyclage égal à 4 ou 5 fois le temps de relaxation spin-réseau T_{1H} représente un bon compromis.

Nous avons déterminé le T_{1H} moyen pour l'ensemble des protons de l'échantillon I par la méthode d'inversion récupération.

La valeur obtenue se situe autour de 150 ms.
Cette valeur est proche de celles que trouvent Pfeffer et al [32] pour certains constituants modèles qui sont aussi des composantes structurales de la matière organique des sols : lignine (164 ms), pulpe de bois (cellulose amorphe:78,8 ms), keratine (protéines:83 ms).

Le temps de recyclage de 1 s qui a été retenu dans ce travail parait donc, à première vue, suffisant pour éviter la saturation. C'est également le temps de recyclage qui est utilisé dans un certain nombre d'études quantitatives portant sur des charbons [58,59].

En fait, le temps de relaxation spin-réseau moyen que nous avons déterminé ici ne donne pas la vraie mesure des fluctuations possibles de T_{1H} d'une composante à l'autre du "réservoir proton", dans nos échantillons.

Les chaines aliphatiques, droites ou ramifiées, des acides gras ou esters et les polyethers aliphatiques qui sont une autre composante structurale de la fraction organique des sols, doivent avoir des T_{1H} nettement supérieurs à 150 ms. Pour l'acide stéarique, par exemple, Pfeffer et al trouvent un T_{1H} de l'ordre de 5.10^3 ms.

Tel doit également être le cas des composantes structurales polyaromatiques. Ainsi Yoshida et al [36] ont montré qu'un temps de recyclage minimum de 6 s doit être mis en oeuvre pour obtenir une évaluation correcte du taux d'aromaticité des produits d'hydrogénation d'un charbon riche en noyaux polyaromatiques.

Une étude complémentaire s'avère donc indispensable pour déterminer les domaines à l'intérieur desquels se situent les T_{1H} pour les différentes formes de carbones que nous individualisons à partir des spectres RMN et pour préciser si un t_r de 1 s est suffisant dans tous les cas.

Déphasage dipolaire : En comparant le spectre obtenu après déphasage dipolaire (CP-MAS-DD) au spectre CP-MAS normal il est possible, comme nous l'avons souligné plus haut de différentier

. les C quaternaires des C protonés

. les C protonés des groupements qui conservent dans le solide une mobilité relativement élevée, $-CH_3$, $-CH_2-$ et $>CH-$ de certains motifs particuliers- de ceux des groupements participant de configurations dans lesquelles leur mobilité est fortement limitée.

La question est de savoir si cette différentiation peut être quantitative et sous quelles conditions.

Il s'agit notamment de préciser

- l'influence des paramètres expérimentaux -temps de déphasage t_{DD} en l'occurence-. C'est-à-dire comment évolue la magnétisation des différents types de C en fonction de t_{DD}

- s'il existe un t_{DD} optimal qui soit du même ordre de grandeur pour les C quaternaires sp^2 et sp^3 et les C protonés participant de groupements "mobiles", et qui ne varie pas notablement en fonction de l'environnement chimique dans lequel ils se trouvent placés.

- par rapport à quelle référence interne les deux spectres (CP-MAS-DD) et (CP-MAS), obtenus dans des conditions expérimentales différentes peuvent être normalisés.

Cet aspect n'a été abordé que de façon partielle et très succinte dans ce travail. Une analyse plus systématique et plus détaillée est en cours.

⟶ + Les temps de déphasage couramment retenus se situent dans la gamme des 40 à 120 μs : [52, 61, 62, 63, 71, 72], 50μs [64, 65, 66], 75μs [67], 100μs [68, 69], 120 μs [70].

Dans le cadre de cette étude deux t_{DD} ont été utilisés : 25 μs et 50 μs.

Sur la figure 15 sont représentés les spectres CP-MAS-DD de deux fractions d'Humine du sol Andique obtenus l'un après un déphasage de 25 μs l'autre après un déphasage de 50μs, et les spectres CP-MAS correspondants.

Les deux échantillons diffèrent peu du point de vue structural.

- Après un déphasage de seulement 25μs, la bande (-3-) entre 29 et 34 ppm reste encore bien marquée.

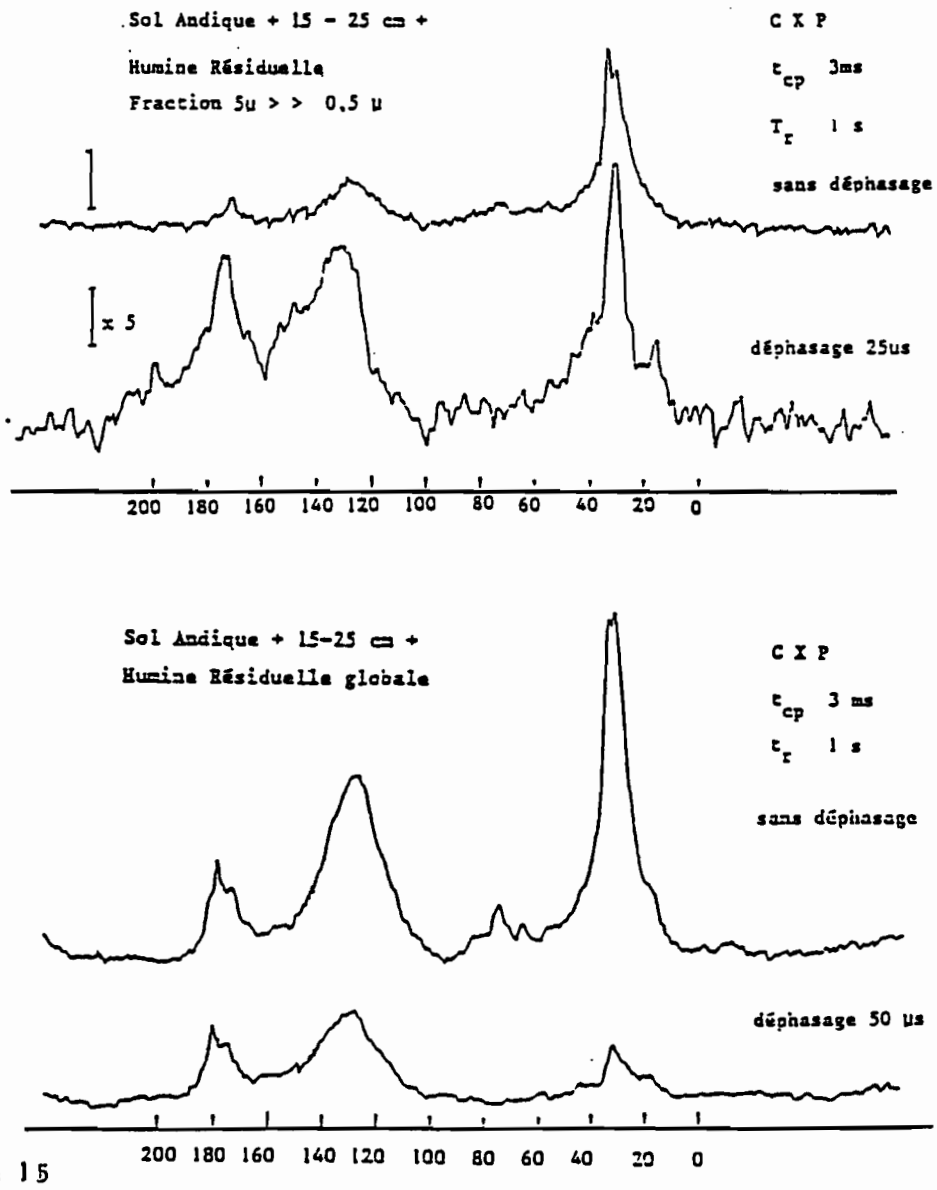


Figure 15

. Nous avons vu que certains $-CH_3$ et carbones quaternaires donnent des signaux dans cette plage de δ .

Le spectre obtenu après déphasage "long" (t_{DD}=50 μ s) montre que la part prise par ces groupements est relativement réduite.

. Les signaux "résiduels" qui contribuent à la bande (-3-) sur le spectre CP-MAS-DD (t_{DD} 25 μ s) de la fraction fine de l'Humine résiduelle doivent correspondre, pour l'essentiel, à des Csp^3 participant de groupements méthylène ou méthine.

Nous avons vu que cette bande est en fait complexe. Sur les spectres qu'on obtient avec le CXP 100 elle se résoud en deux composantes centrées respectivement autour de 29 $\pm$ 1 ppm (-3'-) et de 33 $\pm$ 1 ppm (-3"-).

Les ^{13}C qui contribuent à la composante (-3"-) déphasent sensiblement plus vite que ceux qui contribuent à la composante (-3'-) (ou au moins une partie d'entre eux).

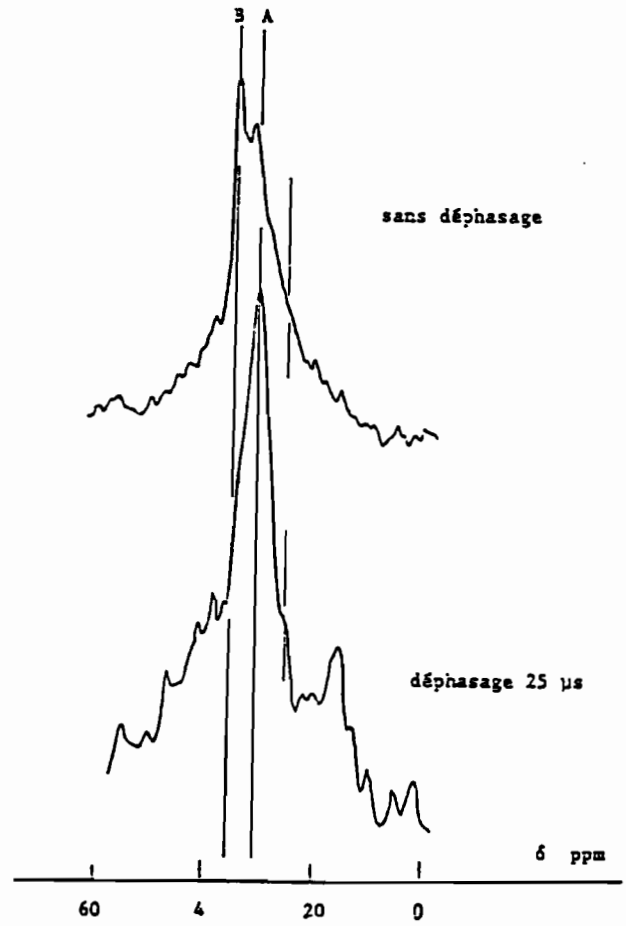


Figure 16

Au moins deux types de $-CH_2-$ et (ou) $>CH-$, qui se différentient par l'importance relative de l'interaction dipolaire entre les ^{13}C et protons correspondants, c'est-à-dire par le degré de mobilité du groupement dans le motif structural contribuent à la bande (-3-) que nous avons attribué globalement aux groupements methylène et methine des configurations répétitives.

. Les radicaux méthine et méthylène des groupements $-CH(CH_3)_2$ et $-CH_2-CH_3$ terminaux de certaines chaines aliphatiques conservent une mobilité appréciable dans le solide [54].

L'existence de $-CH_2-$ de mobilité différentes et qui résonnent tous deux dans la plage de fréquences de la bande (-3-) a été mise en évidence par Wilson et al [59] dans certaines vitrinites.

Des groupements de ce type doivent participer du squelette carboné des constituants humiques.

— Un temps de déphasage d'au moins 50 μs est nécessaire pour atténuer suffisamment les signaux de l'ensemble des groupements méthylène et méthine et pouvoir différentier sans ambiguité les C quaternaires et les $-CH_3$.

Les spectres qu'on obtient après "déphasage court) ($t_{DD} < 40\ \mu s$) peuvent cependant apporter des compléments d'informations intéressants, au moins du point de vue qualitatif.

⟶ + Après un déphasage de 50 μ s les signaux des C quaternaires et des $-CH_3$ sont eux mêmes atténués dans une proportion non négligeable.

Il faut en tenir compte lorsqu'on compare le spectre CP-MAS-DD au spectre CP-MAS normal.

- Les carbones qui résonnent dans la plage de fréquences du domaine F (160 à 190 ppm) étant pour l'essentiel du type quaternaire on a d'abord pensé que le massif des $-C\overset{O}{<}$ pourrait servir de référence interne pour normaliser les spectres (les pourcentages d'aire des autres domaines étant définis par rapport à l'aire de ce massif).

Une telle démarche implique que les constantes d'attenuation T_{DD} des ^{13}C participant des groupements $-C\overset{O}{<}_{O\ (ou\ N)}-$, des différents groupements $-CH_3$ et des carbones quaternaires, sp^2 et sp^3, soient du même ordre de grandeur.

C'est loin d'être le cas

. les T_{DD} des groupements $-C\overset{O}{<}$ se situent dans une gamme allant de 80 à 200 μ s. Ils diffèrent d'un type de groupement à l'autre (-COOH, esters, amide...) et en fonction de l'environnement chimique dans lequel il se trouve placé [54, 56, 64].

. les T_{DD} des carbones sp^2 non protonés sont du même ordre -75 à 218 μ s [54]. Ceux des $^{13}Csp^3$ quaternaires sont par contre nettement plus élevés -> 600 μ s [54]-

. les ^{13}C des groupements méthyle déphasent dans l'ensemble plus rapidement que les ^{13}C quaternaires. Les T_{DD} correspondants se situent dans une fourchette allant de 50 à 120 μ s [54], exception faite des $-CH_3$ tert butyle dont le T_{DD} est supérieur à 1000 μ s.

- Il n'est donc pas possible à partir d'un spectre CP-MAS-DD seulement, c'est-à-dire en ne faisant intervenir qu'un seul temps de déphasage et en prenant uniquement comme référence interne le pic des carbonyles, d'évaluer quantitativement

la part prise par les C quaternaires sp^2 et sp^3 et les différents groupements $-CH_3-$.

Dans le cadre de cette étude, de caractère essentiellement exploratoire, pour avoir une idée au moins approchée de l'importance relative de leurs contributions respectives nous avons pris comme références

. le pic des $- C\leqslant^{O}$ pour les Csp^2 non protonés

. l'épaulement (-1-) entre 0 et 18 ppm, correspondant aux $-CH_3$ terminaux et iso pour les groupements méthyle et les carbones quaternaires de type sp^3 étant entendu qu'en procédant de la sorte on tend à surévaluer la part prise par ces derniers et par les $-CH_3$ participant de groupements tert butyle.

Remarque : Les T_{DD} dont nous avons fait état plus haut ont été déterminés à partir de composés modèles relativement simples.

Nous avons souligné que pour un type de C donné T_{DD} peut varier sensiblement en fonction de l'environnement chimique dans lequel il se trouve placé.

Seule une étude systématique de l'évolution de la "magnétisation résiduelle" en fonction du temps de déphasage, qui permettra de tracer les graphes $M_i = \mathcal{G}(t_{DD})$ pour chacun des domaines spectraux que nous individualisons, permettra de préciser si, dans le cas de nos échantillons des différentes constantes d'atténuation se situent dans les mêmes gammes et de mettre au point des protocoles expérimentaux adéquats.

Ce travail est en cours.

RESULTATS

- Les spectres de l'échantillon de surface du sol Andique et de ses différentes fractions -Matières organiques légères, Acides Humiques, Humine et fractions de l'Humine- sont regroupés sur la figure (17)-

Ces spectres ont été obtenus avec le CXP 90.

Les pourcentages d'aire des six domaines spectraux sont, pour chacune des fractions, donnés dans le tableau (VI).

- Les spectres des acides Humiques et fractions de l'Humine provenant de l'horizon A1 (15-25 cm) de ce même sol sont représentés sur la figure (18).

Ces spectres ont été obtenus avec le CXP 100.

Dans chaque cas deux relevés ont été effectués, l'un par CP-MAS conventionnelle (avec un temps de contact de 3 ms), l'autre après déphasage dipolaire (soit de 25 µs soit de 50 µs).

- Les spectres des différentes fractions d'Humine du Podzol et de la Rendzine sont représentés sur les figures (19) et (20).

Ces spectres ont été obtenus avec le CXP 90.

Les pourcentages d'aire des six domaines spectraux sont donnés dans les tableaux (VII) et (VIII).

- Sol Andique (0 - 5 cm)

Tableau VI

Fraction \ Domaine	A	B	C	D	E	F
Sol Entier	23 %	10,5%	28,5 %	23 %	6,5 %	8,5 %
Matières organiques légères	25	9	27,5	24	6,5	8
Acides Humiques Pyro	16	10	22	30	8	14
Acides Humiques NaOH	24	10,5	25	23	6	11,5
Humine globale	21	10,5	24,5	24	9,5	10,5
Humine de précipitation AH1	26	9	14	30	9	12
Humine résiduelle globale	38	9	17,5	24	4,5	7
Humine résiduelle : > 50µ	34	10	20	22	6	8
Humine résiduelle:50µ >> 5µ	35,5	9	19,5	24	5	7
Humine résiduelle:5µ>>0,5µ	46	10	14,5	19,5	5,5	4,5
Humine résiduelle:2µ>>0,5µ	44	8,5	16	20,5	4,5	6,5
Humine résiduelle : <0,5µ	29	8,5	22	25	8,5	7

- Podzol

Tableau VII

Fraction \ Domaine	A	B	C	D	E	F
Humine globale	26 %	10 %	29 %	22 %	7 %	6 %
Hydrolysat aqueux	10	7,5	35	28	7,5	12
Résidu restant après hydrolyse H_2O	27	14	31	14	6	8
Résidu restant après hydrolyse HCl	27,5	10,5	19	27,5	8,5	7
Humine de Précipitation	25	10	16	29	8	12
Résidu	30	9	20	25	7	9

Rendzine

Tableau VIII

Fraction \ Domaine	A	B	C	D	E	F
Humine globale	27 %	11,5 %	24 %	19 %	6 %	12,5 %
Hydrolysat aqueux	15,5	14	35	17	2	16,5
Résidu d'hydrolyse H_2O et HCl	42	11,5	17,5	11,5	4	13,5
Humine de précipitation AHl	19	10,5	14	30,5	7	16,5
Résidu	28,5	8	18,5	27	7	11
Résidu de purification des AHl	33	13	24	18	4	8

De l'analyse comparative de ces différents spectres se dégage un premier ensemble d'indices et de perspectives.

1 - A partir d'échantillons d'Humine ou de sol entier (à condition que leur teneur en C organique dépasse un certain seuil, relativement élevé, et qu'ils ne soient pas trop riches en Fer) on peut obtenir des spectres suffisamment résolus pour permettre de différentier et d'identifier, sans ambiguité, divers groupements fonctionnels (groupements carboxyles et amides, aldehydes et quinones, -OH phénoliques, methoxyls, groupements O-alkyles) et types de motifs carbonés (aromatiques, polymethyléniques) et d'évaluer la part qu'ils peuvent dans le schéma structural.

—— La RMN ^{13}C CP-MAS permet de déterminer directement la composition radicalaire du matériau organique avant fractionnements et aux différents stades de ce dernier.

Elle peut donc :
- fournir des indications sur l'effet des différents traitements,
- permettre d'établir si les composants structuraux qu'on retrouve dans ces fractions préexistent dans le sol ou dans l'Humine ou s'ils sont édifiés secondairement lors de l'extraction.

2 - On retrouve sur les spectres l'empreinte de certains constituants primaires (-polysaccharides (cellulose, Hemicelluloses), lignine, lipides et n alcanes à longue chaine-) Leur présence et la part qu'ils prennent dans le schéma structural donne une idée de l'importance relative que doivent prendre respectivement les processus d'héritage et les processus de néoformation.

—— La RMN ^{13}C CP-MAS peut donc fournir des informations sur la "composition biochimique" [28] et l'évolution de la matière organique des sols.

3 - Aucune des composantes qu'on sépare dans le cadre de la méthode de fractionnement proposée ne correspond pas à une entité chimique de compositions et structure définie.

Elles présentent toutes une complexité et une diversité structurale comparable à celles du matériau de départ ("matière organique totale" ou Humine).

Ce sont des ensembles "polymoléculaires" dans lesquels aux produits Humiques sensu stricto (produits néoformés par polycondensation à partir des précurseurs dérivant de la biodégradation) sont associés, et, éventuellement liés, des proportions

Figure 17 .

Sol Andique (0 - 5 cm)

Fractions Organiques : CXP 90

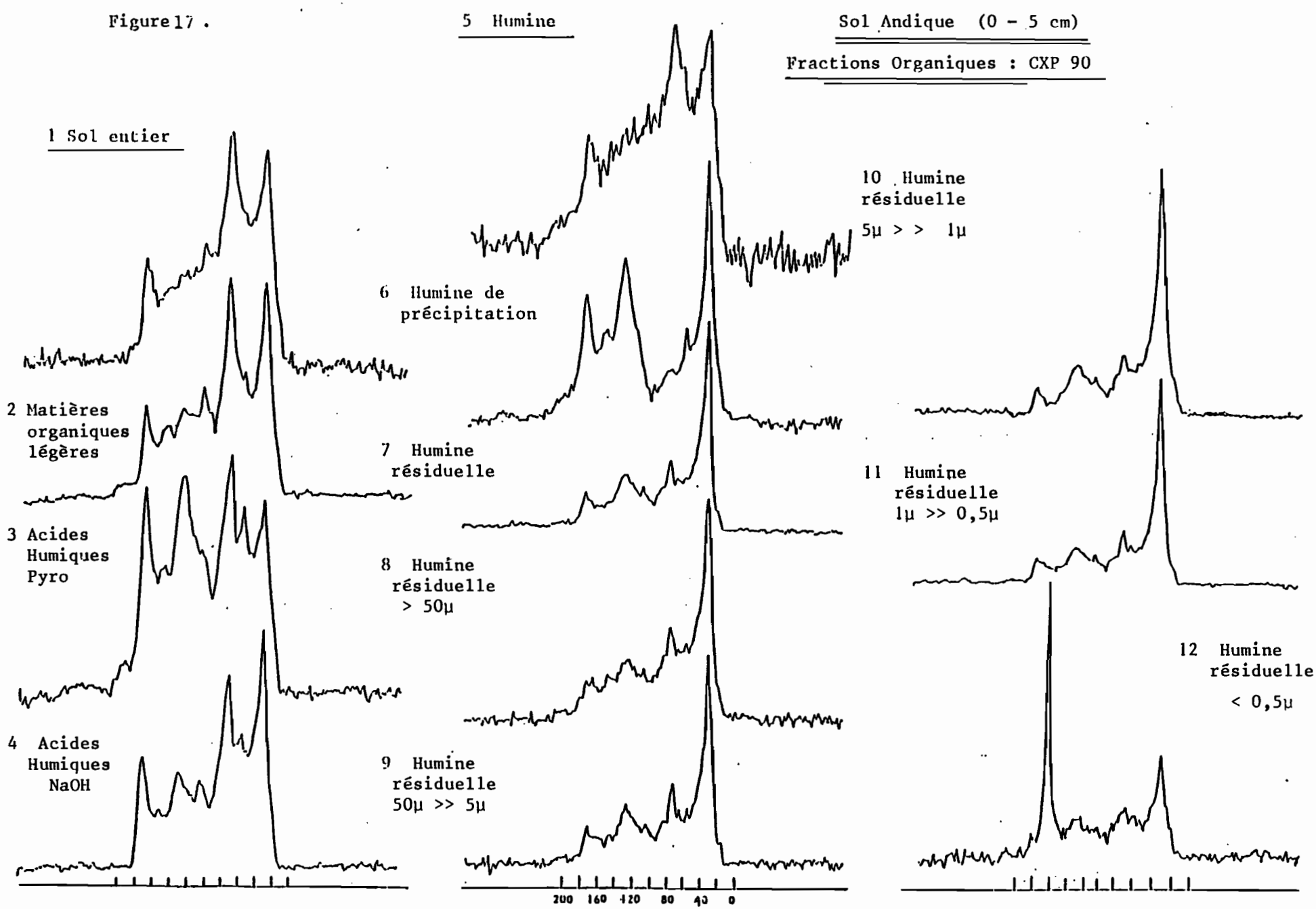


Figure 18a

Sol Andique (MORVAN) 15-25 cm

Bruker CXP 100

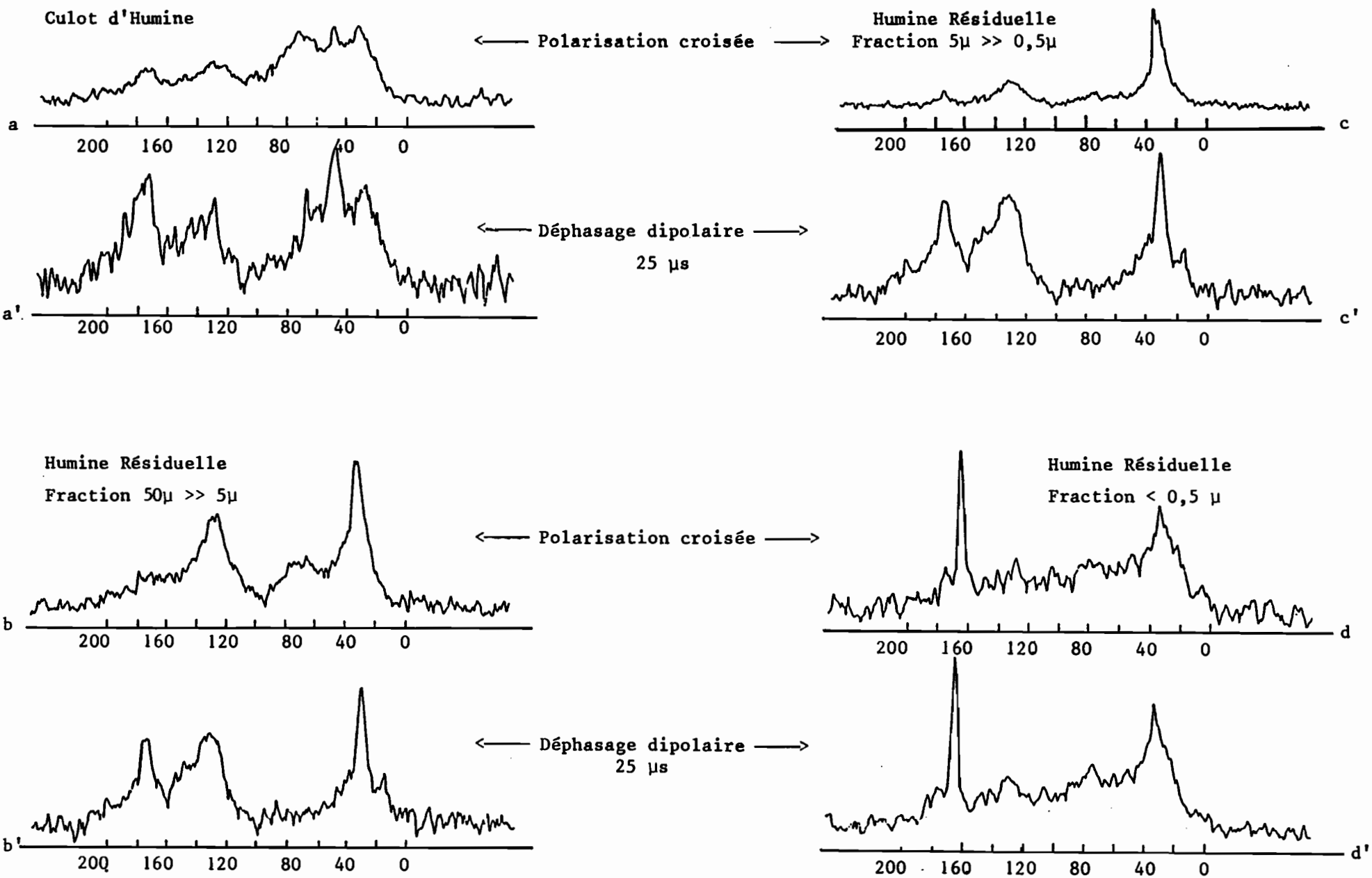


Figure 13b

Sol Andique (MORVAN) 15-25 cm

Bruker CXP 100

Matières Organiques légères

<— Polarisation croisée —>

Temps de contact 3ms

Temps de recyclage 1s

a

200 160 120 80 40 0

Acides Humiques NaOH

c

200 160 120 80 40 0

<— Déphasage dipolaire —>

50 µs

a'

200 160 120 80 40 0

Humine Résiduelle Fraction < 0,5µ

c'

200 160 120 80 40 0

Acides Humiques Pyro

<— Polarisation croisée —>

temps de contact 3ms

temps de recyclage 1s

NB : 20 000

b

200 160 120 80 40 0

Humine Résiduelle globale

d

200 160 120 80 40 0

< — Déphasage dipolaire — >

50 µs

b'

d'

200 160 120 80 40 0

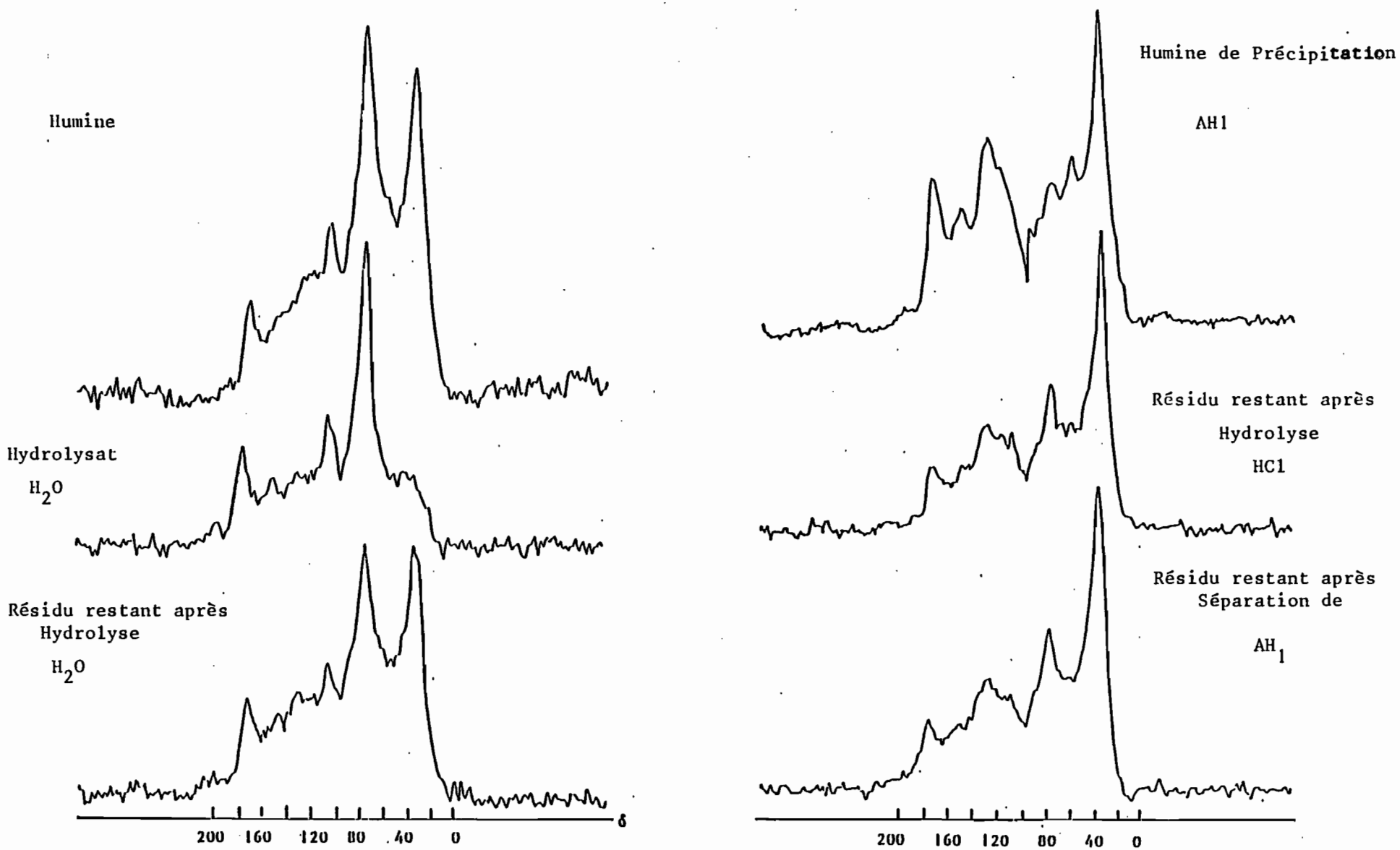
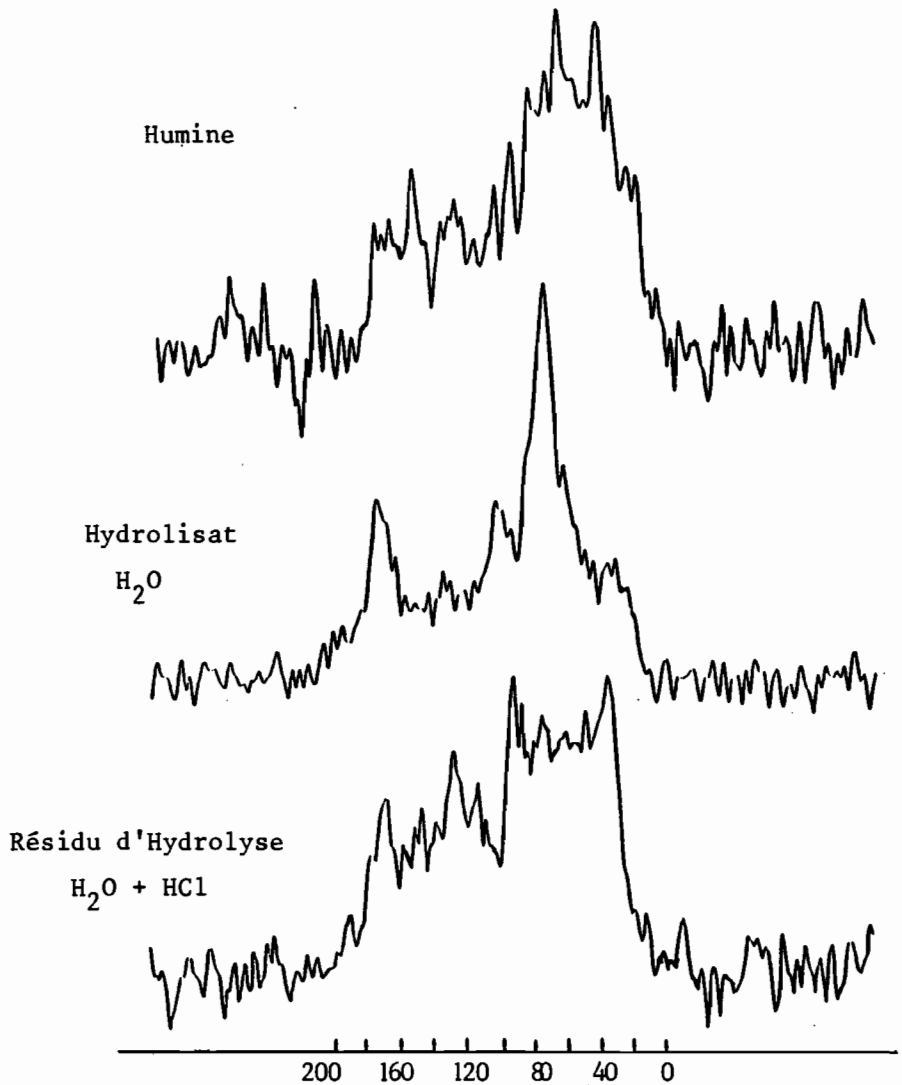


Figure 19. Podzol A_1 Fractionnement de l'Humine



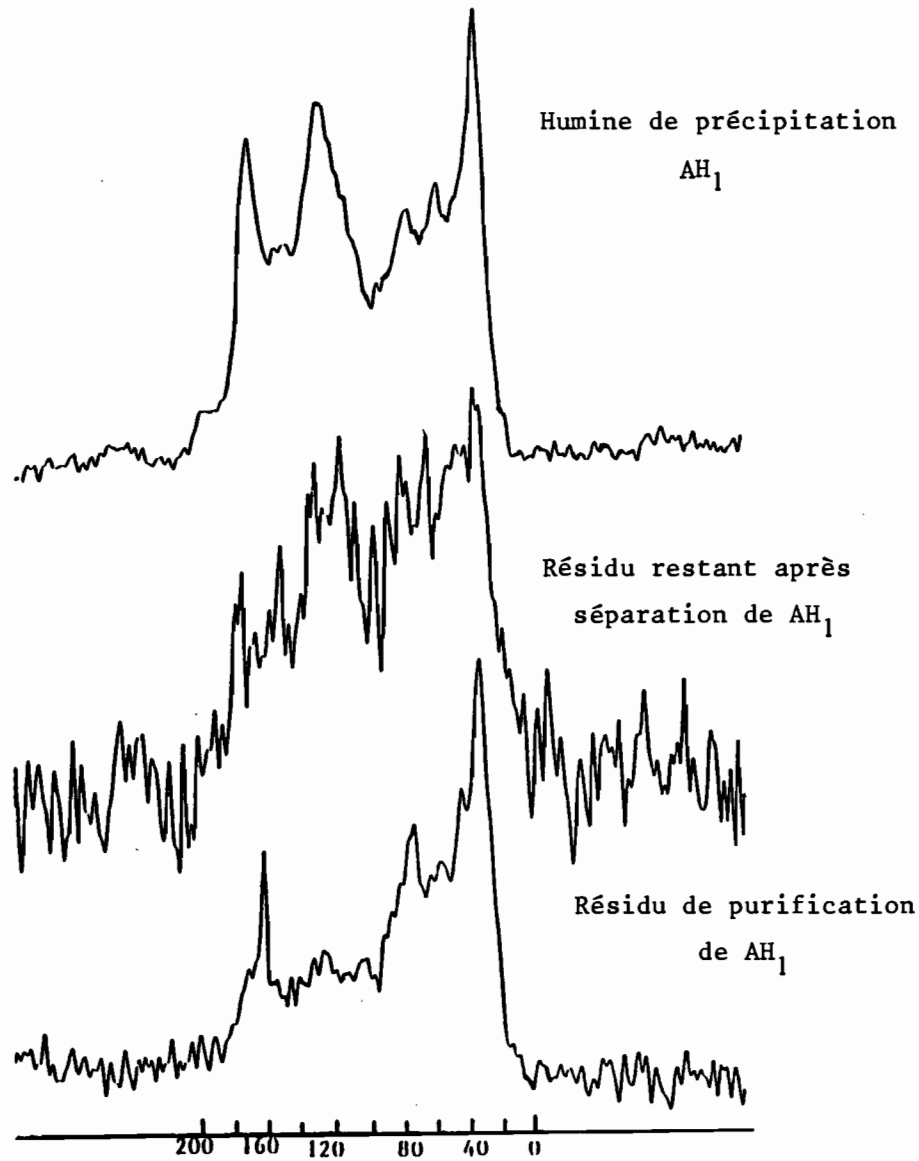


Figure : 20 Rendzine A_1

Fractionnement de l'Humine

variables de constituants hérités et de composés de synthèse microbienne.

4 - La composition radialaire ne change pas qualitativement d'une fraction à l'autre.

Le fait que tous les spectres présentent la même succession de maximas et d'épaulements caractéristiques (en d'autres termes que c'est toujours les mêmes groupes de signaux qui prennent statistiquement plus d'importance que d'autres) indique que dans les différentes fractions on retrouve un ensemble de groupements, motifs carbonés et types de configurations identiques.

Cette observation rejoint l'hypothèse avancée par divers auteurs [132, 133, 134] selon laquelle les composés Humiques présenteraient en fait une grande homogénéité de structure. L'ensemble des constituants Humiques d'origine continentale relèveraient d'un même modèle structural.

A titre indicatif nous avons représenté sur la figure (21) le schéma structural de la "Macromolécule Humique" proposé par Martin et al [51] auquel nous nous référons.

. Le "nucleus" est constitué, pour l'essentiel, par des unités structurales aromatiques et hétéroaromatiques de degrés de condensation variables, diversement substitués (-OH, OCH_3, groupements azotés) reliées entre elles par des ponts C-O-C (aryl-aryl ou aryl-alkyl ether) C-C (liaison C-C directe entre noyaux ou ponts $-CH_2-$ $-(CH_2)_n-$, -CH-) ou azotés ($\geqslant C=N-C\leqslant$, $\geqslant C-NH-C\leqslant$).

. Sur ce nucleus sont greffées, avec une fréquence de distribution variable, des chaines aliphatiques, plus ou moins longues, plus ou moins ramifiées et plus ou moins fonctionalisées.

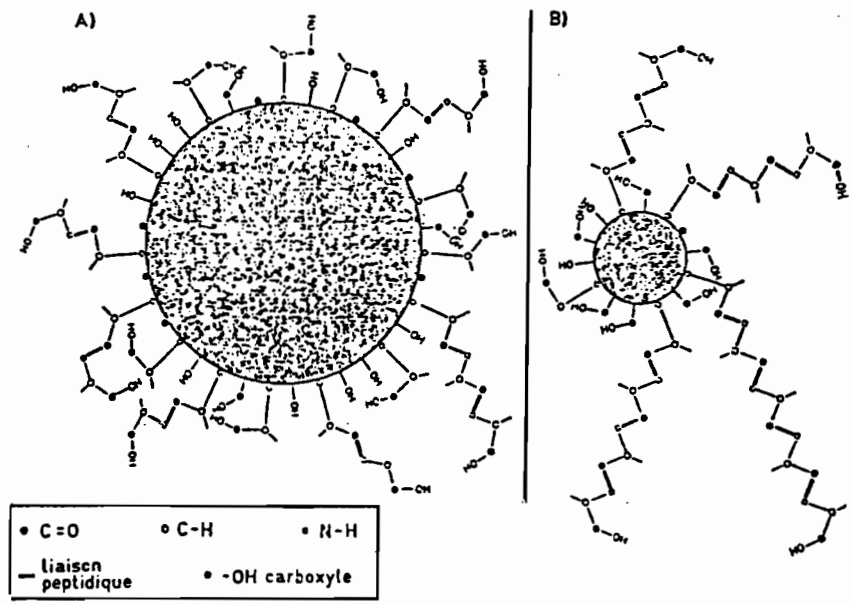


Figure 21. — *Schéma structural de deux macromolécules de type humique*
A = PM > 50 000; B = PM < 5 000 (seuls les nuclei sont représentés à l'échelle).

Dans le schéma de Martin ces chaines seraient, pour l'essentiel du type protéique ou peptidique.

L'analyse des spectres RMN que nous avons obtenus nous amène à envisager que ces chaines peuvent également être du type polyméthylénique, polyether [24] ou polymaléique [73] et que le greffage peut également se faire par l'intermédiaire de liaisons C-C ($Ar-CH_2-R$), moins aisément hydrolysables que les liaisons hétéroaromatiques (ether, esters ou amide).

5 - Ce qui varie, en fait, d'une fraction à l'autre, et, dans une fraction donnée, d'un sol à l'autre, c'est :

- la part que prennent respectivement les constituants hérités et néoformés (en particulier la teneur en carbohydrates)
- le degré de fonctionalisation des différentes composants structuraux et la distribution des divers types de groupements oxycarbonés et azotés (c'est-à-dire la composition fonctionnelle quantitative)
- le taux d'aromaticité et les caractéristiques du squelette carboné de la composante aliphatique c'est-à-dire l'importance relative que prennent respectivement les motifs polymethyléniques peu ou non ramifiés et les motifs polycycliques et (ou) fortement ramifiés et fonctionalisés.

Nous allons, sur la base d'une analyse détaillée et comparative des spectres des trois sols étudiés et de leurs diverses fractions, essayer de préciser ces différences et de dégager un certain nombre de critères structuraux qui

. permettent de caractériser les différents types d'Humines

. peuvent fournir des informations sur leur composition biochimique donc sur le mode d'Humification.

A) Humines - Sol entier - Constituants organiques figurés

I - Humines

- Les spectres des Humines présentent des différences significatives, d'un sol à l'autre, et, dans le sol Andique avec la position dans le profil c'est-à-dire en fonction du degré d'évolution du matériau organique.
Ils sont représentés sur les figures 22 et 23.

- Carbohydrates

Seule une partie de l'aire du massif de résonances C correspond aux signaux des carbones des groupements CH_2OH, $>CHOH$ et $>C-O-C$ de ces derniers.

Des Csp^3 participant de groupements ether, esters et hydroxyles des macromolécules Humiques, de la lignine de lipides (hérités ou dérivant de la biomasse microbienne) résonnent également dans cette plage de fréquences.

Il n'est pas possible de différentier directement ces diverses contributions et donc d'évaluer la part que prennent en fait les carbohydrates.

Les informations complémentaires que peuvent fournir les traitements chimiques -solubilisation partielle par l'eau à haute température, hydrolyse acide- permettent de lever, en partie, l'indétermination.

En comparant les spectres de l'échantillon de départ, des hydrolysats et des résidus restant après hydrolyse, et en tenant compte de la distribution du carbone entre les différentes fractions, il est possible d'évaluer, à quelques pourcents près la proportion du C organique participant des carbohydrates.

C'est l'approche que nous avons utilisé ici dans le cas du Podzol.

Elle implique que les traitements mis en oeuvre n'affectent que dans une mesure relativement réduite les groupements oxycarbonés des autres types de constituants dont nous avons fait état. Nous reviendrons sur cet aspect plus loin.
. Dans l'expérience de fractionnement nous sommes partis d'un poids d'Humine contenant au total 11,9 g de C organique.

7,7 g de ce carbone se retrouvent dans le résidu qui reste après traitement H_2O et HCl.

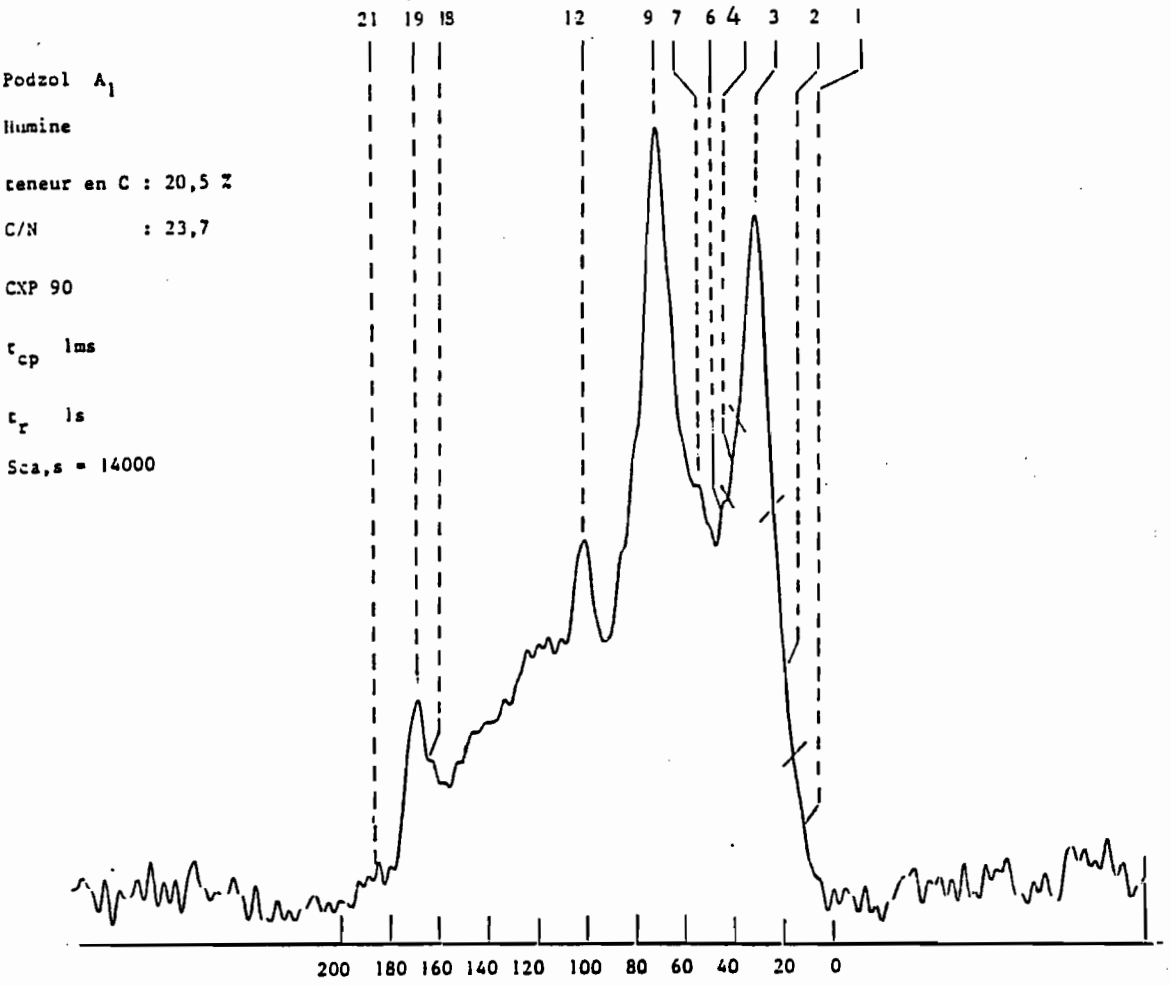
0,500 g ont passé dans l'extrait aqueux et 3,7 g dans l'hydrolysat HCl.

Sur le spectre du résidu final (voir figure 2) le pourcentage d'aire du domaine C est de 19 %. La bande (-9-) est étroite et bien définie. On estime que 40 à 50 % de ce massif correspond encore aux signaux des $C_{(2 \text{ à } 6)}$ du cycle des oses.

Le pourcentage de C participant d'hexoses devrait donc être de l'ordre de 10 à 12 % ici, ce qui équivaut en poids à 770 à 925 mg.

Sur le spectre de l'hydrolysat aqueux (voir figure 3) le pourcentage d'aire du domaine C est de 35 %. Au moins 80 à 90 % de cette aire doit correspondre aux signaux des $C_{(2 \text{ à } 6)}$ du cycle des oses ce qui correspond en poids à 170 à 190 mg.

a)


Podzol A_1
Humine
teneur en C : 20,5 %
C/N : 23,7
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Sca,s = 14000
21 19 18 12 9 7 6 4 3 2 1
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

b)

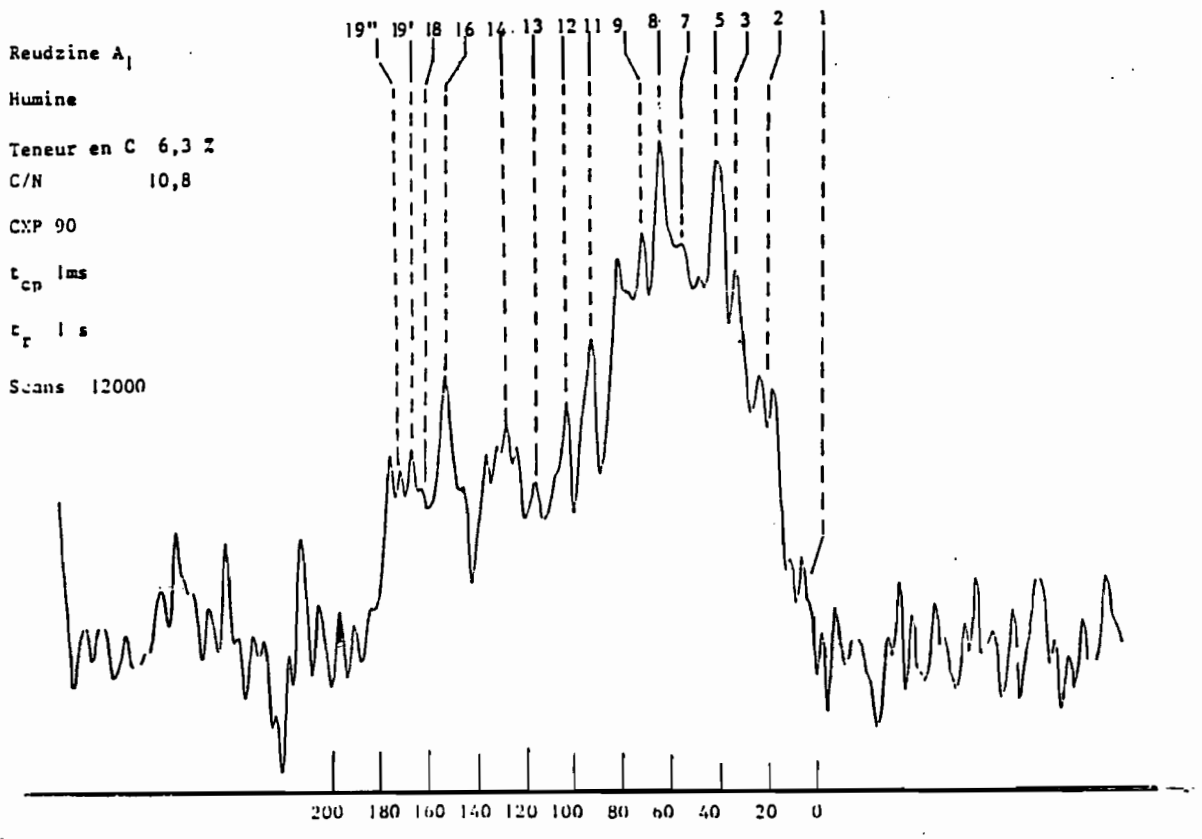

Reudzine A_1
Humine
Teneur en C 6,3 %
C/N 10,8
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1 s
Scans 12000
19" 19' 18 16 14 13 12 11 9 8 7 5 3 2 1
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 22 .

Entre 60 à 65 % du carbone dans l'hydrolysat acide participe de monosaccharides (Il s'agit d'une teneur moyenne en équivallents glucose déterminé par colorimétrie à l'anthrone). Le poids de C de "type carbohydrate" extrait par HCl est donc de l'ordre de 1,95 à 2,15 g.

- On en déduit que le pourcentage de C participant des carbohydrates doit se situer dans l'Humine du Podzol entre 25 à 27 %. -

. Le pourcentage d'aire correspondant effectivement aux signaux des $C_{(2 \text{ à } 6)}$ du cycle des hexoses devrait donc se situer entre 21 et 23 %.

. Entre 19 et 21 % de l'aire du domaine D correspond dans cette hypothèse aux signaux de carbones anomériques.

Nous raisonons ici en termes "d'équivallents glucose" c. à d. nous considérons, pour simplifier, que les unités structurales du matériau polysacharidique sont pour l'essentiel du type glucopyranose et nous ne prenons en compte que les Carbones que nous supposons participer directement de ces cycles : $C_{2,3 \text{et } 5}$ dont les signaux contribuent à la composante (-9-) entre 70 et 78 ppm, C_6 dont les signaux contribuent à l'épaulement (-8-) entre 60 et 68 ppm, C_4 (participant de la liaison glycosidique) dont les signaux contribuent à l'épaulement (-10-) entre 80 et 90 ppm.

Dans le cas du Podzol où les constituants cellulosiques prédominent une telle démarche est justifiée et doit fournir une évaluation assez correcte de la proportion de carbones engagés dans les carbohydrates.

Elle devient discutable lorsque le matériau polysaccharidique est riche en Hémicelluloses et en polysaccharides d'origine microbienne.

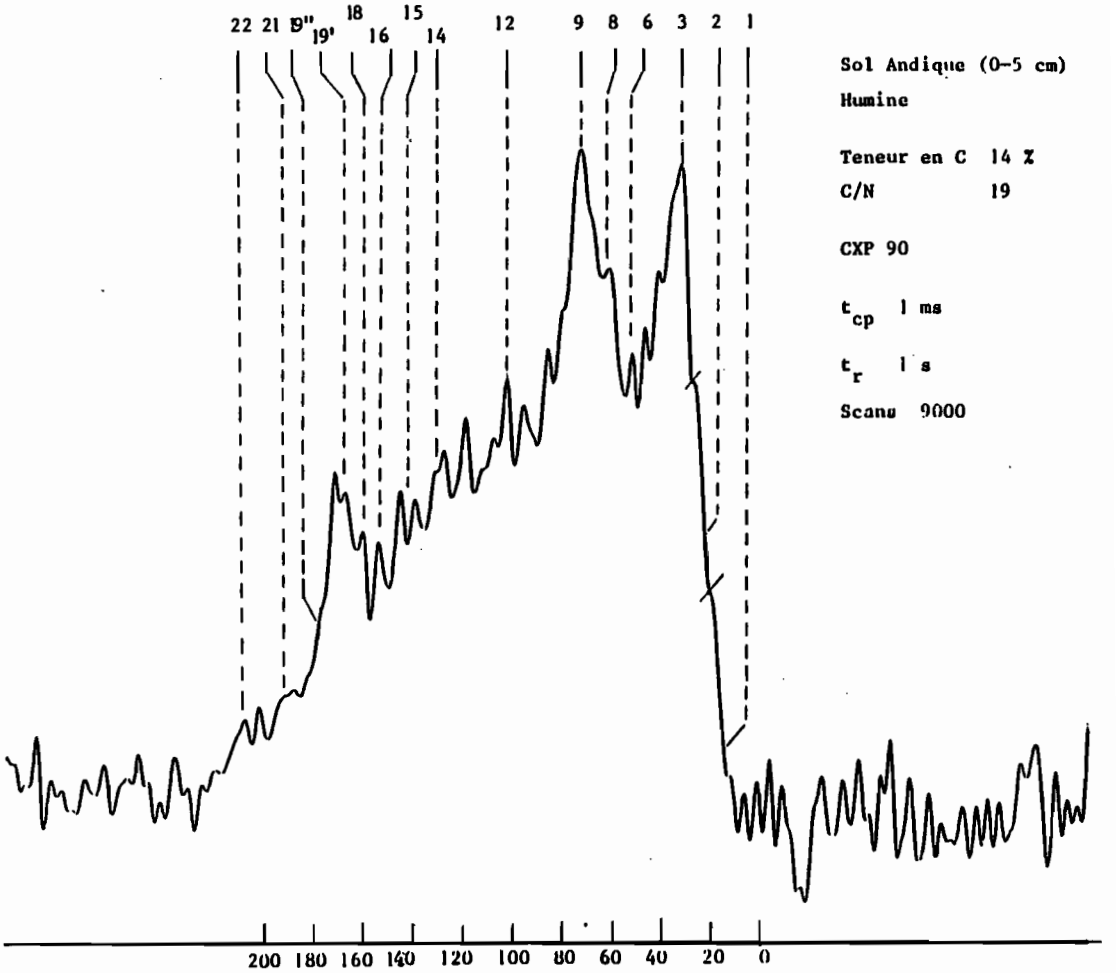
Nous avons vu que les Hemicelluloses et les polysaccharides dérivant de la biomasse microbienne sont généralement complexes, de nature hétéropolymère, fortement ramifiés et substitués (par des groupements acétate, $-COOCH_3$, $-OCH_3$, $-CH_3$ (deoxyglucides)), riches en aminosucres et polyuronides [77].

— Les carbones relevant du cycle des monomères constituants participent d'une gamme de configuration plus diversifiée que les C des cycles gluropyranose (qui sont pratiquemment les seules unités structurales de la cellulose.)

Leurs signaux RMN vont donc se disperser sur une plage de δ plus étendue et le groupe de signaux que nous associons aux $C_{2,3 \text{ et } 5}$ du cycle des hexoses, entre 70 et 75 ppm ne va plus avoir statistiquement la même importance relative que dans le cas où les constituants cellulosiques sont largement prédominents.

— Les polysaccharides microbiens participent de complexes macromoléculaires dans lesquels ils sont associés à des peptides (glycopeptides) des protéines (glycoprotéines) et des acides gras (lipopolysaccharides) [77] ce qui a également pour effet de modifier les δ des C impliqués dans la liaison.

a)


22 21 19" 19' 18 16 15 14 12 9 8 6 3 2 1
Sol Andique (0-5 cm)
Humine
Teneur en C 14 %
C/N 19
CXP 90
t_{cp} 1 ms
t_r 1 s
Scans 9000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

b)

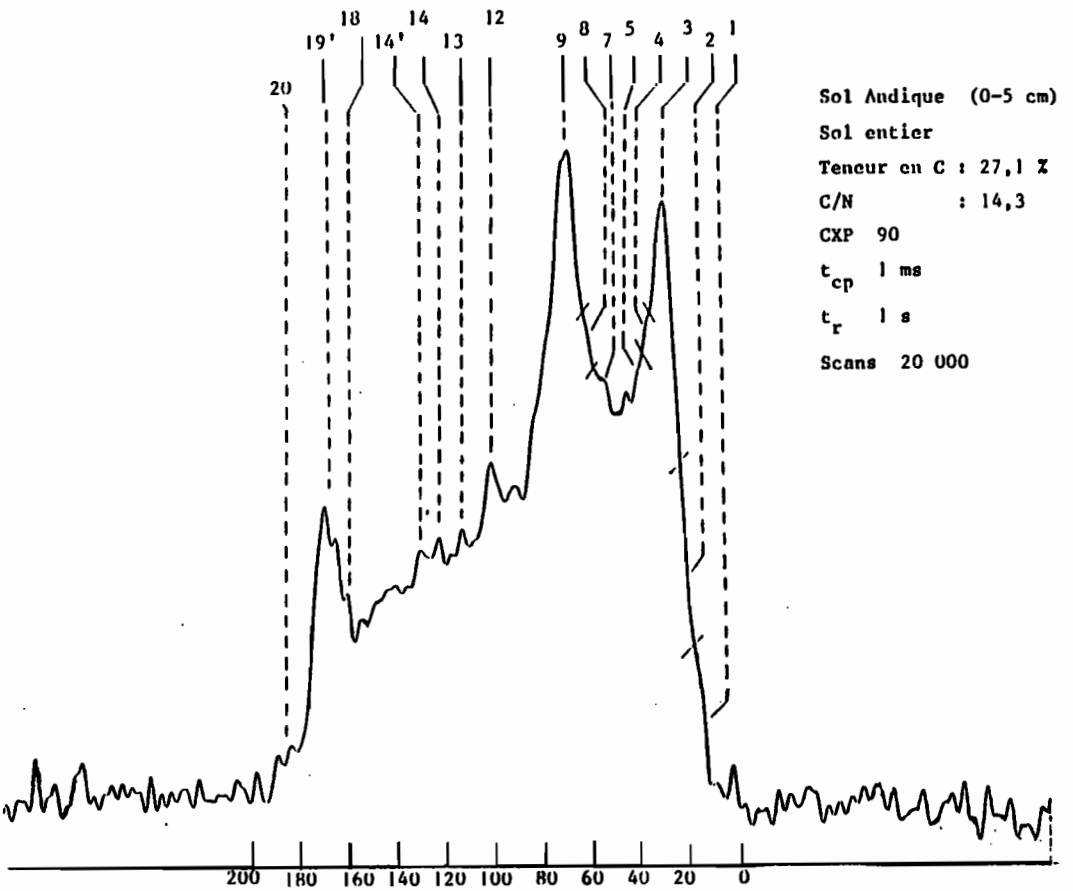

20 19' 18 14' 14 13 12 9 8 7 5 4 3 2 1
Sol Andique (0-5 cm)
Sol entier
Teneur en C : 27,1 %
C/N : 14,3
CXP 90
t_{cp} 1 ms
t_r 1 s
Scans 20 000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 23

Les carbones du $-CH_3$ des groupements acétate, méthyl esters, méthoxy et des CH_3 des deoxyglucides, des groupements $>CHNH_2$ et $-CH_2NH_2$ des aminosucres et du -COOH des uronides résonnent dans d'autres plages de fréquences que celle du domaine D et ne sont donc pas comptabilisés comme carbones participant des carbohydrates dans le schéma des "équivalents glucose" bien qu'ils fassent partie intégrante du matériau polysaccharidique.

— Dans le cas de la Rendzine et du sol Andique nous avons évalué la part qui doit revenir aux C participant des polysaccharides en comparant les spectres correspondants à celui du Podzol et par référence à la teneur qu'on doit avoir dans ce dernier.

+ Sur le spectre de la Rendzine le pourcentage d'aire du domaine C est de 24 %.

La composante (-9-) se différentie à peine de ce massif.

Si le matériau polysaccharidique était dans ce sol, comme dans le Podzol, essentiellement de type cellulosique seule une faible proportion de l'aire du massif C devrait correspondre aux signaux de carbones participant de ce dernier.

La teneur en carbohydrates ne devrait pas attendre 15 % (en pourcentage du C total).

Comme nous aurons l'occasion de le souligner plus loin l'Humine de la Rendzine est riche en Hemicellulose et en polysaccharides d'origine microbienne. Ces derniers présentent une plus grande diversité de configurations et, à teneur équivallente, le groupe de signaux de la bande $72 < \delta < 76$ ppm doit être moins marqué, relativement à ceux des domaines $80 < \delta < 90$ et $60 < \delta < 70$ ppm, que précédemment. Une partie des carbones bien que participant des unités structurales des carbohydrates ne contribuent pas au massif D et ne sont pas pris en compte dans cette évaluation.

- Nous estimons que le pourcentage global de carbones relevant des polysaccharides doit se situer, dans l'Humine de ce sol, entre 17 et 22 %.

N.B. : L'effacement relatif de la bande (-9-) sur le spectre de cet échantillon, par rapport au précédent, ne doit pas être uniquement lié au fait que le matériau polysaccharidique présente ici une plus grande diversité structurale.

Sur les spectres des extraits aqueux dans lequels les polysaccharides ramifiés et fortement substitués doivent prendre une part importante la composante (-9-) reste la plus marquée du spectre (voir fig. 31, p. 104).

- La contribution relative des groupements oxycarbonés relevant de constituants autres que les carbohydrates doit être nettement plus importante dans ce sol que dans le Podzol.

+ Sur le spectre de l'échantillon de surface du sol Andique le pourcentage d'aire du domaine C se situe, comme dans le cas précédent, vers 24 %.

Le pic (-9-) est bien individualisé. Il se détache cependant moins nettement du massif C que sur le spectre du Podzol.

Le pic (-12-) que nous associons aux carbones anomériques est également moins marqué.

La proportion de groupements autres que les $>$ CHOH et $-CH_2OH$ du cycle des oses, qui contribuent au massif C doit être nettement plus élevée ici que dans le cas du Podzol.

En termes d'équivalents glucose, le pourcentage de C participant des carbohydrates ne devrait pas dépasser 20 % dans cet échantillon.

Il doit tomber en dessous de 15 % dans l'Humine provenant de l'horizon A_1. La bande (-9-) est encore à peine marquée sur le spectre de cet échantillon et la composante (-12-) qui correspont aux carbones anomériques n'est pratiquement plus décelable.

Contrairement à ce qui se passe dans le cas du Podzol les polysaccharides doivent être dégradés assez rapidement dans ce sol.

Taux d'aromaticité : Il est défini à partir de la somme des pourcentages d'aire des domaines E et D (déduction faite de la fraction d'aire que nous estimons correspondre aux carbones anomériques), les carbohydrates n'étant pas pris en compte

$$T_{ar} = (\% E) + (\% D - \frac{1}{6} C_{car.}) \Big/ 100 - \% C_{car}.$$

C_{car} : Pourcentage de carbones participant des carbohydrates (en équivalent glucose)
Ce que nous déterminons en fait c'est le pourcentage global de carbones de type sp^2 aromatiques et oléfiniques.

Le taux d'aromaticité réel est toujours inférieur.

+ Dans l'Humine du Podzol la somme des pourcentages d'aire des domaines D et E est de 20 %.

Nous avons estimé que % C_{car} se situe entre 25 et 27 %.

On en déduit que le pourcentage de l'aire du domaine D qui correspond au Carbones anomériques doit se situer entre 19 et 21 %.

— T_{ar} devrait donc être de l'ordre de 33 à 34 % —

La proportion de Csp^2 de type oléfinique, participant de motifs terpénoïdes (résines), est appréciable dans l'Humine de ce sol. Le taux d'aromaticité réel devrait donc être inférieur à 30 %.

+ Dans le cas de la Rendzine les pourcentages d'aire des domaines D et E sont respectivement de 19 % et 6 %.

Si on admet que % C_{ar} se situe entre 17 et 22 %, en raisonnant en termes d'équivalents glucose, le pourcentage de Csp^2 devrait se situer ici entre 25 et 27 %.

Il est donc nettement plus bas que dans l'Humine du Podzol.

+ Dans l'échantillon de surface du sol Andique les pourcentages d'aire des domaines D et E sont respectivement de 24 % et 9,5 %.

En tablant sur un % C_{carb} de 20 %, le T_{ar} devrait être au moins de 37 % ici.

La part relative que prennent les composants aromatiques dans le schéma structural est nettement plus importante dans l'Humine de ce sol que dans celle du Podzol et de la Rendzine.

La matière organique du sol Andique et du Podzol dérive du même matériau primaire (litière de conifères). L'apport initial d'unités structurales aromatiques (lignine) devrait en gros être du même ordre dans les deux cas.

Le fait que l'Humine du sol Andique soit relativement plus riche en Csp^2 que celle du Podzol résulte vraisemblablement de ce que l'activité biologique est nettement plus marquée et la cellulolyse plus rapide dans le sol Andique.

Taux de fonctionalisation

- Le taux de fonctionalisation global -pourcentage de l'ensemble des carbones, sp^2 et sp^3, participant de groupements oxycarbonés et azotés- ne peut être déterminé directement à partir des spectres $RM^{13}C$ CP-MAS.

Ce paramètre pourrait en principe être évalué à partir du rapport

$$T_{fonct} = \left[(\%\ F) + (\%\ C) + (\%\ E) + (\%\ B_N)\right] / 100$$

où % F représente le pourcentage d'aire du massif F entre 160 et 220 ppm

% C représente le pourcentage d'aire du massif C entre 60 et 92 ppm

% E représente le pourcentage d'aire du massif E entre 140 et 160 ppm

% B_N représente le pourcentage d'aire du massif B correspondant aux signaux des groupements azotés (aminés et amide).

Si les massifs F et C correspondent quasi exclusivement aux signaux de carbones participant d'un groupement oxycarboné, des Csp^2 participant de liaisons C-C peuvent contribuer au massif E. Par ailleurs, certains carbones aromatiques hydroxylés ont des δ inférieurs à 140 ppm et ne sont pas pris en compte. Comme ne sont également pas pris en compte les carbones anomériques et les carbones des groupements acétals dont les signaux contribuent au massif D.

Enfin, dans le domaine B, les signaux des Csp^3 participant de groupements azotés ne se différentient pas de ceux des Csp^3 quaternaires ou participant des groupements methine. % B_N ne peut donc être évalué.

- Les carbohydrates contribuent dans une mesure importante à la fonctionalisation globale.

Leurs teneurs pouvant différer fortement d'un sol à l'autre et d'une fraction à l'autre c'est essentiellement ces variations que risquent de refléter les fluctuations de T_{fonct}.

Pour obtenir des informations sur la nature et l'importance des effets

secondaires que peuvent provoquer certains des traitements que nous mettons en oeuvre nous cherchons plus particulièrement à voir, dans le cadre de cette étude, comment évolue, éventuellement, sous l'effet de ces traitements, la composition fonctionnelle des autres composantes structurales (celles participant des "macromolécules" Humiques, entre autres).

Dans cette optique les carbohydrates ne sont pas pris en compte, dans la détermination du "taux de fonctionalisation apparent" auquel nous nous référons et que nous évaluons à partir du rapport

$$T_{fonct}(app) = \left[(\%\ F) + (\%\ E) + (\%\ C - \frac{5}{6}\ C_{ar})\right] / 100 - \%\ C_{ar}$$

. Les carbones sp^3 participant de groupements azotés (aminés, $-\overset{|}{\underset{|}{C}}NH-$ des groupements amide) ne sont pas pris en compte.

T_{fonct} est donc toujours inférieur au taux de "fonctionalisation apparent" effectif.

- Ses variations reflètent, pour l'essentiel, celles de la fonctionalisation oxycarbonée.

- Le taux de fonctionalisation oxycarboné effectif (carbohydrates non pris en compte) peut être évalué à partir du rapport

$$T_{ox}(app) = \left[(\%\ F) + (\%\ E - \%\ E_N) + (\%\ C - \frac{5}{6}\ \%\ C_{ar})\right] / 100 - \%\ C_{ar}$$

où $\%\ E_N$ représente le pourcentage d'aire du domaine E correspondant aux Csp^2 directement liés à un atome d'azote (et dont les signaux apparaissent, pour l'essentiel, dans la bande $140 < \delta < 150$ ppm). $\%\ E_N$ ne représente jamais plus de 50 % de % E.

- Ces deux paramètres sont affectés d'une marge d'incertitude relativement élevée. Ce n'est que dans le cadre d'analyses comparatives et dans la mesure où ils diffèrent notablement d'un échantillon à l'autre qu'ils peuvent fournir des informations réellement exploitables-.

+ Dans l'Humine du Podzol

Le taux de fonctionalisation apparent se situe entre 25 et 30 %.

$\%\ E_N$ étant inférieur à 50 %, le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné devrait se situer entre 23 et 27 %.

En moyenne au moins 1 carbone sur 5 est directement lié à un O.

- De 32 à 36 % de ces carbones résonnent dans la plage de fréquence du domaine F.

Il s'agit essentiellement de $-C\overset{O}{<}$ participant de groupements -COOH portés par les noyaux aromatiques et de groupements ester et amide aliphatiques. (Les signaux les plus marqués se situent dans la bande $166 < \delta < 175$ ppm, le maximum de la composante (-19-) est centré autour de 169 ppm).

L'épaulement (-18-), nettement moins marqué, correspond aux signaux de groupements esters et amide aromatiques ou oléfiniques.

Les -COOH liés aux unités structurales aliphatiques prennent une part relativement réduite dans le schéma fonctionnel (les signaux de la bande $175 < \delta < 185$ ppm sont peu marqués).

Les teneurs en $\geqslant$ C=O quinoniques et en groupements aldehyde sont négligeables.

- Le pourcentage d'aire du massif E, rapporté au pourcentage d'aire global du domaine des carbones sp^2 $[\% E/(\% E + \% D - \frac{1}{6} \% C_{ar})]$ est de l'ordre de 28.

La proportion de carbones sp^2 portant un groupement hétéroaromatique doit se situer entre 25 et 30 %. (si on admet qu'il s'agit pour l'essentiel de carbones aromatiques moins de 2 C par cycle, en moyenne, sont hétérosubstitués).

Les signaux les plus intenses du domaine E se situent dans la zone de δ inférieurs à 145 ppm.

Ces signaux peuvent être associés soit à des Csp^2 participant de liaisons C-C soit à des Csp^2 portant un groupement -OH phénolique en ortho de deux carbones eux mêmes hétérosubstitués ou en ortho et para d'un carbone hétérosubstitué (noyaux polyhydroxylés).

L'importance relative que prennent les signaux de la bande $95 < \delta < 110$ ppm (Csp^2 protonés en ortho et para de $\geqslant$ C-OH) indique que ces types de motifs doivent ici prendre une part notable dans le schéma structural.

Dans le Podzol l'activité biologique est relativement réduite. On doit retrouver dans l'Humine une forte proportion de constituants hérités et notamment de lignine peu transformée [28].

Si on se réfère au schéma structural de la lignine des conifères proposé par Freudenberg [27] au moins 20 % des Csp^2 constituants (motifs guaiacyl) portent soit un $-OCH_3$ ou un OH ou participent d'une liaison ether, c'est-à-dire ont des δ compris entre 145 et 155 ppm.

Sur le spectre de la figure 22a la proportion de Csp^2 dont les signaux apparaissent dans cette bande ne dépasse pas 15 %. Ces signaux ne se détachent pas significativement du massif de résonances basal.

Aux éléments structuraux de la lignine héritée doivent être associés dans l'Humine de ce sol une proportion notable d'unités structurales aromatiques ou hétéroaromatiques fortement substituées -polyphénols, polyhétérocycles oxygénés- participant ou dérivant d'autres constituants.

+ Dans l'Humine de la Rendzine, si on admet que le pourcentage de C participant des carbohydrates (en équivalents glucose) se situe entre 17 et 22 %, le taux de fonctionalisation apparent doit être de l'ordre de 32 à 35 %.

Il est légèrement plus élevé que dans le Podzol.

24 A

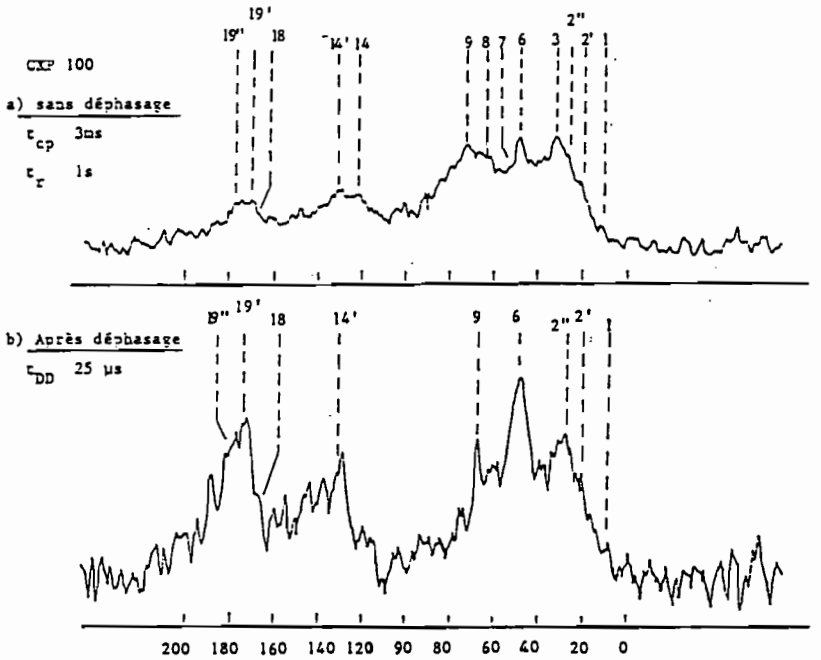


Figure Sol Andique (15-25 cm) - Humine

24 B

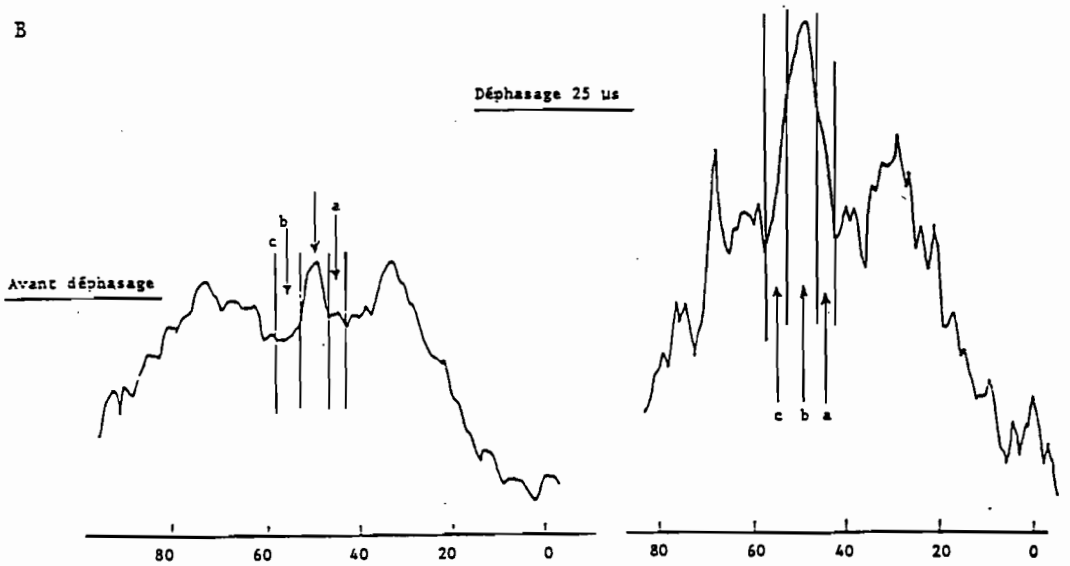


Figure 24. Sol Andique (15 - 25 cm) - Humine

Le taux de fonctionalisation effectif doit être nettement supérieur. Le rapport C/N est ici de 10,8 contre 23,7 dans le Podzol et la plus grande partie de ces groupements azotés contribuent aux résonances du domaine B.

La part relative prise par les signaux qui apparaissent entre 140 et 150 ppm est apparemment réduite ici. % E_N ne devrait pas dépasser 25 %.

+ Le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné doit se situer entre 30 et 34 %. Il est nettement plus élevé que dans l'Humine du Podzol.

- De 47 à 51 % des carbones oxygénés participent ici de groupements carboxyles ou amide

La distribution des - $C\overset{O}{<}$ entre les divers types de groupements qui contribuent au massif F diffère quelque peu de celle qu'on a dans le Podzol.

La part relative prise par les groupements amide est nettement plus importante ici.

Une proportion non négligeable -COOH doit être associée à des motifs aliphatiques (la composante -19"- est nettement marquée sur le spectre de cet échantillon).

La proportion relative de groupements amide esters ou anhydride aromatiques (épaulement 18) devrait également être plus élevée que dans le Podzol.

- Au moins 30 % des carbones sp^2 résonnent dans la plage de fréquences du domaine E.

Les signaux les plus intenses se situent ici entre 148 et 156 ppm (la bande -16-, centrée autour de 153 ppm se détache nettement du massif de résonances "basal") alors que la part prise par les signaux qui apparaissent dans la plage $135 < \delta < 145$ ppm est relativement réduite.

La proportion de Csp^2 hétérosubstitués (-C portant un -OH phénolique ou un $-OCH_3-$) est nettement plus importante que dans l'Humine du Podzol. Elle doit dépasser 27 %.

. Dans le Mull carbonaté des Rendzines forestières bien que, au contraire de ce qui se passe dans le Mor du Podzol, l'activité biologique soit importante, la ligninolyse reste très limitée. La dégradation (chimique aussi bien que biologique) de la lignine est ici freinée par les coatings de carbonate de Ca qui enrobent les particules provenant de la fragmentation du matériau primaire (et qui sont incorporées au sol grâce à l'activité de la faune).

La fraction organique de ces sols contient donc une forte proportion de "lignine héritée" non ou très peu transformée [28].

- Les indices qu'on tire de l'analyse du spectre RMN sont en accord avec cette hypothèse.

La matière organique de la Rendzine étudiée ici dérive d'une litière de feuillus. Nous avons vu que sur le spectre des lignines de feuillus dans lequelles prédominent les motifs de type syringyl les deux groupes de signaux les plus intenses du domaine aromatique se situent respectivement autour de 153 à 155 ppm et autour de 103 à 106 ppm.

Tel est le cas sur le spectre examiné ici.

— La proportion de Csp^3 engagés dans des groupements oxycarbonés autres que carboxyles amide devrait se situer entre 30 et 35 %.

Le pic (-8-) qui domine le massif C entre 60 et 65 ppm correspond à des $-CH_2OH$ (autres que ceux du cycle des oses) $-C_\gamma H_2OH$ des chaines latérales des motifs syringyl entre autres, et à des CH_2 en β d'un groupement $-CH_2-COO-$ ($-CH_2-$ en α du groupement -OH de l'alcool des esters).

+ Dans l'échantillon de surface du sol Andique le taux de fonctionalisation apparent dépasse 35 % (si on estime que la proportion de carbones participant des carbohydrates est inférieur à 20 %).

En admettant, comme dans le cas du Podzol que % E_N est inférieur à 50 % on évalue que le taux de fonctionalisation oxycarbonée doit se situer ici entre 28 et 33 %.

Il est significativement plus élevé que dans l'Humine du Podzol et du même ordre que dans l'Humine de la Rendzine.

La proportion de C "oxygénés" participant de groupements carboxyles et amide se situe entre 41 et 45 %.

Elle est nettement plus importante que dans l'Humine du Podzol mais plus faible que dans celle de la Rendzine.

Les -COOH associés aux composants aromatiques doivent prendre ici une plus grande importance relative dans le schéma fonctionnel que dans le cas du Podzol (le maximum -19'- se situe ici vers 173 ppm).

La proportion de -COOH liés aux motifs aliphatiques (épaulement -19"-) est également plus élevée que dans l'Humine du Podzol.

Comparativement à cette dernière les $\geqslant$C=O quinoniques (épaulement 21) et les groupements aldehyde prennent ici une part marquée dans le schéma fonctionnel.

- La proportion de carbones hétérosubstitués se situe entre 25 et 30 % comme dans l'Humine du Podzol.

Le rapport signal/bruit étant assez mauvais, l'empreinte des signaux caractéristiques des $\geqslant$C-OH, $\geqslant$C-OCH_3 et $\geqslant$C-O-R de la lignine n'est pratiquement pas décelable.

. Dans les domaines D et E ($92 < \delta < 160$ ppm) le spectre de cet échantillon présente la même allure générale que celui de l'Humine du Podzol.

Comme dans cette dernière les motifs aromatiques fortement (hétéro)substitués du type polyphénol et (ou) polyhétérocycliques oxygénés (flavonoïdes) doivent prendre une part appréciable dans le schéma structural de la fraction aromatique.

+ Sur le spectre de l'Humine provenant de l'horizon A_1 les signaux de la bande $95 < \delta < 115$ ppm sont, beaucoup moins marqués que sur celui de l'échantillon de surface.

(Une bonne partie des signaux qui contribuent ici au massif de résonances faiblement marqué entre 95 et 108 ppm doivent correspondre à des carbones anomériques).

Ce spectre présente, dans le domaine D, une allure générale qui diffère significativement de celle du spectre de l'échantillon de surface et qui se rapproche d'avantage de celle du spectre qu'on obtient à partir de l'Humine hydrolysée (voir figure : résidu d'hydrolyse du Podzol).

Deux groupes de signaux se détachent ici du massif D.

. le groupe de signaux de la bande $118 < \delta < 124$ ppm qui contribuent au

"maximum" (-14-) et qui correspondent pour l'essentiel à des Csp^2 protonés

. le groupe de signaux de la bande 128 < δ < 135 ppm qui contribuent au maximum (-14'-) et qui correspondent pour l'essentiel à des Csp^2 de type quaternaire.

Dans le domaine E le groupe de signaux de la bande 140 < δ < 145 ppm est encore relativement bien marqué. Ces signaux doivent correspondre ici, en grande partie à des Csp^2 participant de liaisons C-C.

Les ⩾ C=O quinoniques et les groupements aldehyde prennent une part importante dans le schéma fonctionnel de l'Humine de cet échantillon.

- Dans l'échantillon de surface (A_o) on doit encore retrouver dans l'Humine une proportion non négligeable de composés phénoliques peu condensés hérités des cellules.

Ce sont ces noyaux aromatiques protonés et fortement hydroxylés qui doivent, en grande partie, contribuer aux résonances de la bande 95 < δ < 115 ppm et déterminer l'aspect particulier que présente le spectre de cette dernière dans les domaines D et E (comparativement à ceux des différentes fractions qu'on en tire).

Dans ce sol où l'activité biologique doit être importante ces précurseurs "hydrosolubles" doivent être rapidement incorporés dans la structure des "macromolécules" Humiques.

Ils perdent leurs groupements -OH qui doivent en partie être remplacés par des liaisons C-C (réticulation).

Ceci explique que dans l'Humine de l'horizon A_1 (15-25 cm) les unités aromatiques polyhydroxylées ne prennent plus qu'une part relativement négligeable dans la structure.

Dans le Podzol où l'activité biologique est réduite ces monomères ou oligomères polyphénoliques persistent plus longtemps dans le sol en s'associant en partie avec les composés azotés (formation de complexes polyphénol-protéine [128, 129]).

Ceci explique qu'on les retrouve encore en A_1.

Composantes aliphatiques

Une analyse comparative des spectres dans le domaine 0 < δ < 60 ppm permet de se faire une idée de la part que prennent respectivement

- les motifs carbonés de type répétitif . enchainements methyléniques peu ou non ramifiés dont les signaux se distribuent dans une bande de δ étroite (29 < δ < 34 ppm : bande (-3-))

. les motifs ramifiés à longue chaine du type isoprenoïde dont les signaux (les $-CH_3$ mis à part, se répartissent dans une bande de δ un peu plus large, entre 25 et 36 ppm,)

- les structures aliphatiques réticulés et les motifs cycliques ou polycyclique saturés dont les signaux contribuent au massif de résonances "basal" entre 24 et 60 ppm.

La bande (-3-) se différentie d'autant plus nettement du massif basal que la part que prennent les motifs polymethyléniques à longue chaine par rapport à ces derniers est plus importante.

- Les motifs ramifiés (riches en groupements methyle) linéaires ou cycliques.

L'importance relative que prennent les signaux que la bande $0 < \delta < 25$ ppm (qui contribuent aux épaulements (-1-) et (-2'-)) par rapport aux autres groupes de signaux du domaine A donne une idée du "degré de ramification".

- Les motifs aliphatiques à chaine courte du type propyle, isopropyle, butyle portées par les noyaux aromatiques dont les signaux contribuent à l'épaulement (-2"-)

N.B. : Les signaux des $-CH_2-$ et $>CH-$ (non directement liés à l'atome d'azote) des chaines peptidiques se distribuent dans la plage de δ allant de 25 à 45 ppm et contribuent au massif de résonances basal.

L'ordre de grandeur du rapport C/N permet de situer l'importance relative de cette contribution.

- L'aspect du spectre dans la plage $0 < \delta < 60$ ppm peut donc fournir des indications sur la structure du squelette carboné des composants aliphatiques.

On peut en tirer des informations sur la nature et l'origine des constituants et sur la composition biochimique de l'Humus.

L'analyse comparative des spectres de l'Humine du Podzol et de la Rendzine en fournit ici une illustration.

+ Sur le spectre du Podzol la bande (-3-) est bien marquée et se détache nettement des autres composantes des massifs de résonances A et B.

Comparativement à cette bande l'épaulement (-1-) est relativement réduit.

- Les motifs répétitifs du type $-(CH_2)_n-$, à n élevé, peu ou non ramifiés (chaines paraffiniques) prennent, statistiquement, une importance particulière dans la fraction aliphatique de l'Humine de ce sol.

+ Le spectre de la Rendzine présente un aspect fondamentalement différent par rapport à celui du Podzol dans les domaines A et B.

La bande (-3-), caractéristique des motifs polymethyléniques, ne se différentie plus des autres composantes du massif A.

- Les enchainements peptidiques prennent une part nettement plus importante dans la structure de l'Humine de ce sol que dans celle de l'Humine du Podzol (le rapport C/N est respectivement de 10,8 dans la première et de 23,7 dans la seconde).

Les motifs carbonés qui forment le squelette des protéines et des polypeptides du sol présentant une grande diversité de configurations, les signaux des $-CH_2-$ et $>CH-$ constituants se distribuent, comme nous l'avons souligné, de façon quasi uniforme dans toute la bande de δ allant de 25 à 45 ppm.

S'ils contribuent à augmenter la hauteur du massif de résonances basal, c'est pratiquement d'un incrément constant dans toute l'étendue du domaine de δ considérés et non de manière inégale (de façon plus marquée dans la plage $35 < \delta < 45$ ppm

que dans la plage 25 < δ < 35 ppm par exemple).

L'effacement relatif de la bande (-3-) sur le spectre de l'Humine de la Rendzine est donc essentiellement dû au fait que les motifs polyméthyléniques à longue chaine, peu ou non ramifiés prennent ici une part très réduite dans le schéma structural, relativement aux motifs ramifiés, linéaires et (ou) cycliques et aux motifs participant des enchainements peptidiques.

Les signaux qui contribuent aux épaulements (-1-) et (-2'-) sont nettement plus marqués, par rapport à ceux de la bande 29 < δ < 35 ppm, que sur le spectre de l'Humine du Podzol ce qui indique que le degré de ramification est globalement plus important que dans cette dernière.

⟶ Les motifs aliphatiques fortement ramifiés et (ou) polycycliques saturés doivent prendre une part très importante dans le schéma structural de l'Humine de la Rendzine.

Les divergences qu'on relève dans la composition et les caractéristiques structurales de la fraction aliphatique entre les Humines de ces deux sols sont le reflet de différences dans la "composition biochimique" et le mode d'Humification et recoupent les données dont on dispose par ailleurs [28].

- Dans les Mor dérivant de litières acidifiantes, l'activité biologique est réduite.

Les constituants de l'Humine de l'horizon A_1 des Podzols sont encore proches de ceux de la matière organique fraiche. Nous verrons plus loin que dans cette dernière les motifs paraffiniques à longue chaine peu ou non ramifiés prennent une place importante dans le schéma structural.

L'Humine héritée, peu transformée représente dans ces sols la forme d'Humine prédominante.

Les constituants hydrosolubles peu condensés qui pouvaient subsister dans la fraction organique de l'horizon A_1 étant pour l'essentiel extraits par le mélange pyrophosphate soude lors de la séparation des acides Humiques Humiques et Fulviques, l'Humine est enrichie relativement en motifs carbonés dérivant de constituants membranaires et d'exudats cellulaires (résines) insolubles.

. Dans l'horizon A_1 de certains Podzol la fraction lipidique peut représenter jusqu'à 25 à 30 % de la matière organique totale [85, 86].

Elle est constituée essentiellement d'acides gras et alcools à longue chaine et leurs esters et de n alcanes dérivant des végétaux supérieurs (lipopolysaccharides entrant dans la constitution des membranes cellulaires, cuticules de cire enrobant les aiguilles). Les produits de synthèse microbienne ne prennent qu'une part négligeable.

L'empreinte des signaux caractéristiques de ces constituants (bande -3-) est bien marquée sur le spectre de l'Humine du Podzol étudié ici. Ils doivent représenter entre 15 et 20 % du C total.

+ Dans le Mull carbonaté des Rendzines si la ligninolyse est très réduite, comme dans le Mor des Podzols, la cellulose par contre est rapidement dégradée. L'activité biologique est importante.

- Dans les Rendzines forestières le matériau organique dérivant de la biomasse endogène disparait à un rythme relativement lent.

Ce matériau est riche

. en constituants aliphatiques saturés fortement ramifiés (linéaires et (ou) cycliques) -lipides, complexes lipoprotéiques et lippolysaccharides d'origine microbienne-

. en constituants azotés

. en polysaccharides complexes, fortement substitués (comportant une proportion élevée d'aminosucres et de polyuronides).

- Une grande partie des composés "hydrosolubles" peu condensés provenant de la biodégradation (sucres, acides aminés) sont insolubilisés dès l'horizon A_1 (effet des Ca^{++}) alors que dans les Mor ils migrent rapidement dans le profil.

—— Les motifs carbonés qui forment le squelette de ces divers constituants présentent une grande diversité de configurations et de conformations et leurs signaux se distribuent uniformément dans toute la plage de δ allant de 18 à 60 ppm.

L'aspect que présente, dans les domaines A et B, le spectre de la Rendzine, comparativement à celui du Podzol ("massif de résonances basal" nettement plus marqué) indique que ces constituants doivent prendre une part relativement plus importante dans le schéma structural de l'Humine de la Rendzine que dans celle du Podzol.

. A côté de l'Humine héritée (lignine héritée, pour l'essentiel) l'Humine microbienne doit prendre une part non négligeable dans le "spectre biochimique" [28] de ce sol.

Nous montrerons plus loin que de l'ordre de 10 % des carbones sp^3, de l'Humine, qui contribuent aux résonances dans la plage de fréquences du domaine A se retrouvent dans la fraction non acido soluble de l'Humine de précipitation, et environ 30 % dans le résidu qui reste après séparation de cette dernière.

Sur le spectre de l'Humine de précipitation (voir figure 35 p.) la bande (-3-) est bien marquée et on évalue que de l'ordre de 40 à 50 % de l'aire du massif A doit correspondre aux signaux des $-(CH_2)_n-$.

Dans la fraction acidosoluble de l'Humine de précipitation on ne retrouve pratiquement pas de motifs carbonés à longue chaine.

Sur le spectre du résidu (figure) la bande (-3-) est à peine marquée et la fraction d'aire du massif A qui peut être attribuée aux signaux des groupements $-(CH_2)_n-$ ne doit pas dépasser 10 %.

Nous montrerons également que le traitement aqueux à chaud et le traitement acide ne "solubilisent" pratiquement pas les motifs paraffiniques à longue chaine.

—— On en déduit que moins de 10 % de l'aire du massif A sur le spectre de

l'Humine doit correspondre aux signaux de groupements $(CH_2)_n$ (n > 4).

⟶ En d'autres termes la proportion de carbones participant de motifs polyméthyléniques à longue chaine peu ou non ramifiés ne dépasse pas 2 à 3 % dans cette dernière alors qu'elle dépassait 15 % dans l'Humine du Podzol.

Ceci peut résulter de ce que

- le matériau primaire (litière de feuillus) dont dérive l'Humus de la Rendzine est moins riche en constituants lipidiques à longue chaine (cerides en particulier) et n alcanes que celui dont dérive le Mor du Podzol (Pin, Callune),

ou que les constituants lipidiques (du matériau végétal) sont rapidement dégradés (β oxydation suivie de coupure) dans la Rendzine où l'activité biologique est importante et donc seule une faible proportion se retrouve dans l'Humine (essentiellement dans l'Humine de précipitation comme nous le verrons plus loin).

Les deux hypothèses peuvent vraisemblablement être retenues ici.

+ Le sol Andique et le Podzol relèvent d'écosystèmes identiques -végétation forestière acidifiante (conifères), climat tempéré de moyenne montagne (700 à 800 m).

Bien que le matériau de départ soit le même, les caractéristiques et l'évolution de la matière organique doivent différer quelque peu dans les deux sols.

- Le spectre de l'échantillon de surface (A_0 : 0 à 5 cm) du sol Andique présente beaucoup d'analogies avec celui du Podzol. (figure 23 -a-).

La bande (-3-) est bien individualisée. Elle se détache cependant un peu moins des massifs de résonance A et B que sur le spectre du Podzol.

Les C/N des deux échantillons diffèrent peu, la contribution des $-CH_2-$ et $>CH-$ participant des chaines peptidiques, doit être en gros du même ordre sur les deux spectres.

La part que prennent les motifs polyméthyléniques à longue chaine peu ou non ramifiée par rapport aux motifs ramifiés (linéaires cycliques) et (ou) polycycliques et aux groupements alkyle à chaine courte est ici relativement moins marquée que dans l'Humine du Podzol.

+ Le spectre de l'Humine provenant de l'horizon A_1 (15-25 cm) du sol Andique (figure 24) présente dans les domaines A et B beaucoup d'analogies avec le spectre de l'Humine de la Rendzine.

La bande (-3-) se détache ici, encore à peine du massif de résonances basal.

Les signaux correspondant aux $-CH_2-$ et $>CH-$ du squelette carboné des chaines peptidiques doivent ici contribuer dans une proportion un peu plus faible à ce dernier (le rapport C/N est de 24,4 en A_1 contre 19 en A_0).

Les épaulements (-1-) et, surtout, (2'- et -2"-) sont très prononcés.

Une proportion notable de carbones sp^3 participent ici de groupements méthyle comme le confirme le spectre obtenu après déphasage.

Une partie des signaux qui s'individualisent entre 40 et 60 ppm correspondent à des groupements dans lesquels les ^{13}C déphasent nettement moins vite, c'est-à-dire dans lesquels interviennent des $-CH_3$: $-N(CH_3)_2$ entre 43 et 46 ppm (-b-), $-COOCH_3$ entre 48 et 53 ppm (-b-), $-OCH_3$ entre 55 et 60 ppm (-c-). La bande (-b-) se détache nettement du massif B.

- La part relative que prennent dans le schéma structural les motifs ramifiés, riches en groupements $-CH_3$ et les groupements alkyle à chaine courte est très importante ici, comme dans la Rendzine.

La contribution des motifs paraffiniques est un peu plus importante que dans cette dernière mais nettement plus réduite que dans l'échantillon de surface.

- L'activité biologique est plus élevée dans le sol Andique que dans le Podzol.

(. La fraction du carbone organique total du sol participant des acides huiques humiques et fulviques, donc de produits, pour l'essentiel, néoformés, estssupérieure à 60 % dans le sol Andique même en A_0).

Les motifs paraffiniques à longue chaine peuvent être partiellement dégradés. Les motifs "ramifiés" et polycycliques saturés qui résistent mieux voient leur importance relative augmenter progressivement.

Tel semble être effectivement le cas en A_1. (Nous verrons plus loin que sur les spectres de l'Humine résiduelle correspondante, la contribution relative des $-CH_3$ et des motifs répétitifs autres que $-(CH_2)_n$, est aussi importante que celle des enchainements méthyléniques).

. En A_0 cette dégradation ne doit pas encore être sensible. (Sur les spectres de l'Humine de précipitation et de l'Humine résiduelle provenant de cet horizon la bande (-3-) est étroite et bien marquée ce qui indique que la part relative prise par les motifs paraffiniques est encore importante).

A titre d'illustration nous avons regroupé sur la figure 25 les spectres de ces trois types d'Humine ce qui permet de mieux visualiser ces différences.

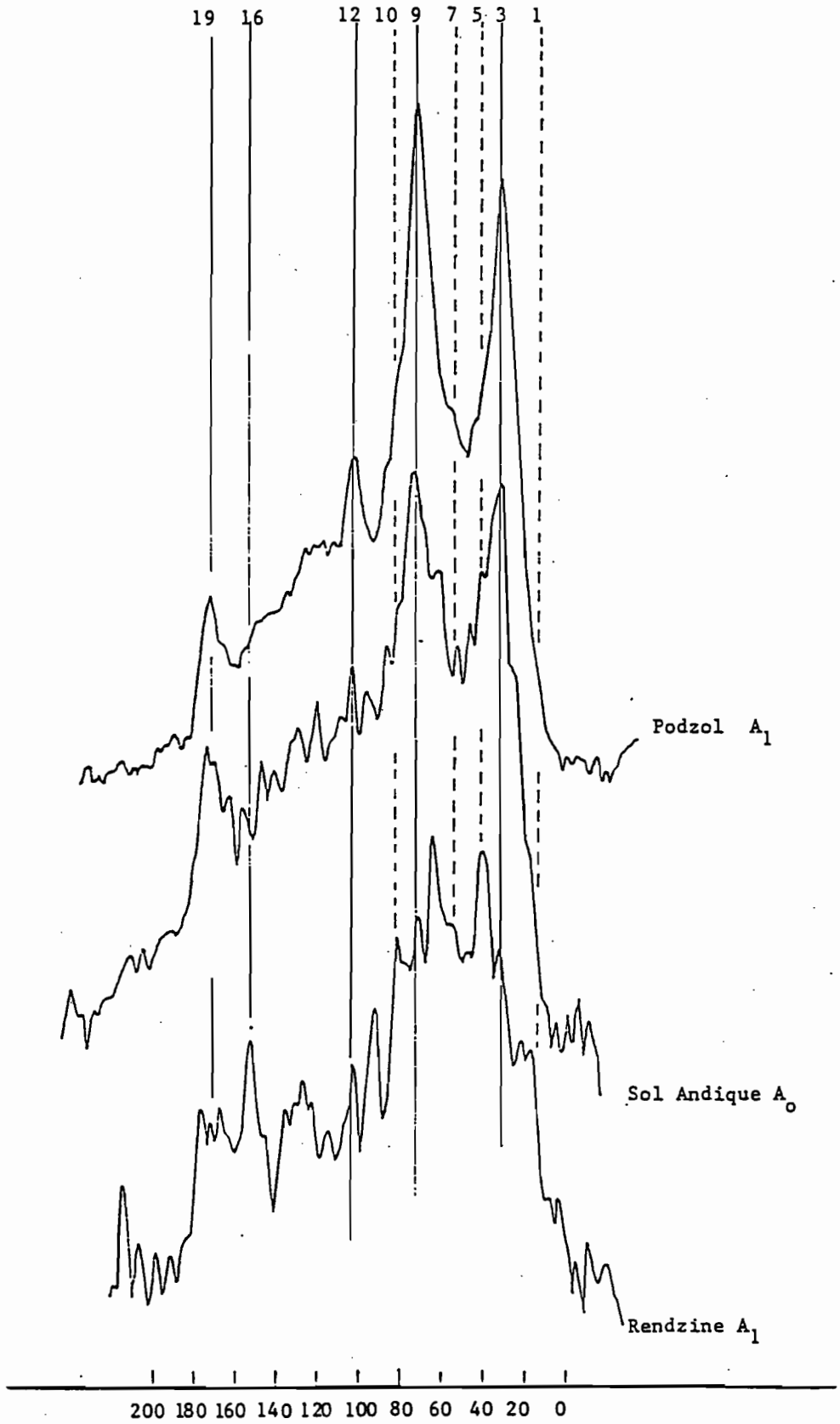


Figure 25 Spectres d'Humines

II - Sol entier

Le spectre de l'échantillon de surface (A_o : 0-5 cm) du sol Andique est représenté sur la figure 23b.

Il présente la même allure générale que celui de l'Humine correspondante

- Carbohydrates

La bande (-9-) est légèrement plus marquée que sur le spectre de cette dernière. Elle se détache cependant moins nettement du massif de résonances que sur le spectre du Podzol.

Le pourcentage de C participant des carbohydrates (en termes d'équivallents glucose) est relativement plus élevé que dans l'Humine mais nettement plus faible que dans le Podzol.

On estime qu'il se situe autour de 22 $\pm$ 2 %.

- Taux d'aromaticité

Les pourcentages d'aire des domaines D et E sont respectivement de 23 et 6,5.

La proportion de carbones sp^2 (carbohydrates non pris en compte) devrait donc se situer entre 30 et 34 %.

Elle est légèrement plus faible que dans l'Humine.

- Taux de fonctionalisation

En admettant que la teneur moyenne en C de "type polysaccharide" est de l'ordre de 20 %, le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné devrait se situer autour de 35 %.

Si on estime que % E_N varie entre 25 et 50 %, comme dans l'Humine le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné devrait se situer entre 28 et 31 %.

Il ne diffère pas significativement de celui de l'Humine.

De 33 à 36 % des carbones "oxygénés" sont du type - C<O . Leur proportion relative est plus faible que dans l'Humine.

La distribution des différents types de groupements contribuant au massif F doit être en gros la même que dans l'Humine. La différence apparemment la plus marquée réside dans le fait que sur le spectre du sol entier la part relative prise par les -COOH aliphatiques et surtout par les groupements aldehyde et quinones est nettement moins marquée.

Les spectres de l'Humine et du sol entier présentent la même allure générale dans les domaines D et E.

Les caractéristiques structurales et la composition fonctionnelle de la fraction aromatique ne doivent pas différer sensiblement dans le sol et dans l'Humine.

La proportion de Csp^2 hétérosubstitués est légèrement moins importante dans cette dernière.

- Le pourcentage d'aire du domaine A est de 23 % ici contre 21 % dans le cas de l'Humine.

La part prise par les motifs paraffiniques dans le schéma structural est plus importante dans le sol que dans l'Humine. Si on tient compte du fait que le C/N du sol est plus faible que celui de l'Humine (14,3 contre 19) la différence doit être en fait nettement plus marquée que ne le laisse supposer l'écart entre ces pourcentages d'aire.

Nous en aurons confirmation en analysant les spectres des matières organiques légères et des acides humiques extraits à partir de ce sol.

Ces différents résultats sont regroupés dans le tableau T VIII.

	Sol Andique 0 - 5 cm		Sol Andique (15-25) Humine	Podzol Humine	Rendzine Humine
	Sol entier	Humine			
C "carbohydrates" %	22 à 24 %	< 20 %	< 15 %	25 à 27 %	17 à 22 %
Taux d'aromaticité %	32 à 34 %	≥ 37 %		30 à 31 %	25 à 27 %
Taux de Fonctionalisation % (a)	∿ 35 %	> 35 %		26 à 28 %	32 à 35 %
C carboxyles en % (b)	33 à 36 %	41 à 45 %		32 à 36 %	47 à 51 %
- COOH, $-COO^-$ aliphatiques		+ +			+ + +
- COOH, $-COO^-$ aromatiques	+ + +	+ + +		+ + +	+ + +
Esters, Amides aliphatiques	+ + + +	+ + + +		+ +	+ + +
Anhydrides aromatiques	+ +	+ +		+ +	+ +
Csp^2 hétérosubstitués		27 à 30 %		27 à 30 %	≥ 30 %
Ar - O - R, Ar - N<	+ + +	+ + +		+ + + +	+
ArOH, Ar - O - Ar	+ +	+ +		+ +	+ + + +
Ar - O - CH_3	+	++		+	+ +
Structurés aliphatiques ramifiés	+ +	+ +	+ + + +	+ +	+ + + +
Méthyle et groupements alkyle à chaine courte	+ +	+ +	+ + + +	+	+ + +
Groupements alkyle à longue chaine	+ + +	+ + +	+	+ + + +	+

a: % de C, autres que ceux des carbohydrates, portant un groupement oxygéné ou azoté, les groupements aminés aliphatiques n'étant pas pris en compte

b: % des C participant de groupements oxycarbonés autres que ceux des carbohydrates

++++ contribution relative très importante

+++ contribution relative moyenne à importante

++ contribution relative moyenne à faible

+ contribution relative faible à négligeable

Seuil de détection

L'analyse précédente a montré qu'il est possible, dans le cadre d'une analyse comparative, de tirer des informations valables des spectres RMN ^{13}C-DPC-RAM d'échantillons de sol entier ou d'Humines.

L'échantillon de surface du sol Andique qui contient plus de 27 % de carbone organique représente un cas particulièrement favorable.

Il importe donc de préciser quelle doitêtre la teneur en C minimale de l'échantillon pour que le spectre correspondant reste effectivement exploitable.

Pour Wilson [74], au stade actuel, avec les spectromètres à champ moyen, du type de ceux que nous avons utilisé (100 MHz) ce seuil se situerait autour de 6 %.

L'examen des différents spectres que nous avons obtenu dans le cadre de cette étude tend à confirmer cette conclusion.

Dans le cas de la Rendzine où la teneur en C organique total de l'échantillon d'Humine se situe autour de 6,3 % on approche du rapport signal/bruit limite en dessous duquel le spectre n'est plus que difficilement interprétable.

Nous verrons plus loin qu'à partir des spectres du résidu d'hydrolyse, où la teneur en C organique est de l'ordre de 4 % et du résidu restant après séparation de l'Humine de précipitation où elle n'est plus que de 2,5 %, on peut tout au plus dégager certaines tendances et uniquement sur la base d'une comparaison avec les spectres des fractions les plus riches.

Rappelons encore que ces échantillons ne contiennent que des teneurs en fer relativement négligeables donc que le rapport signal/bruit n'est pas limité par d'éventuels effets magnétiques ou paramagnétiques.

Dans la plupart des sols, en particulier ceux de la zone intertropicale, les teneurs en C organique sont en général inférieures à 10 % et diminuent très rapidement quand on s'éloigne de la surface. La situation est encore compliquée par la fait que ces sols sont souvent riches en Fer.

L'élimination préalable des sesquihydroxydes (Hydrolyse acide) et les fractionnements ne pourront donc pas être toujours évités dans ces cas.

<u>En résumé</u>

1 - L'aspect des spectres dans le domaine C, en particulier le caractère plus ou moins marqué que présentent les signaux de la bande $70 < \delta < 80$ ppm peut, dans le cadre d'une analyse comparative, fournir des indications sur l'importance relative que doivent prendre les carbohydrates dans le schéma structural.

Leur teneur ne peut cependant être estimée simplement à partir du pourcentage d'aire du massif C. D'autres composants structuraux et constituants, Humiques ou non Humiques, contribuant, dans une mesure non négligeable à ce dernier par leur groupements -OH (alcooliques), esters et ethers.

Elle doit être déterminée de façon indirecte en faisant intervenir des traitements chimiques qui solubilisent et hydrolysent préférentiellement les polysaccharides.

Les proportions extraites étant évaluées soit à partir des spectres RMN^{13}C des extraits soit par voie chimique (chromatographie, colorimétrie).

La spectrométrie RMN^{13}C-CP-MAS permet ici d'apprécier et de contrôler l'effet de ces traitements et d'établir des bilans fonctionnels.

C'est l'approche qui a été mise en oeuvre dans le cas du Podzol. L'ordre de grandeur de la teneur en carbohydrates des autres échantillons a été estimé en comparant leur spectres à celui du Podzol et par référence à celle de ce dernier.

- Dans les trois types de sols on retrouve des quantités importantes de polysaccharides dans l'Humine.

Les proportions de carbones participant de ces derniers se situent respectivement entre 25 et 27 % dans le Podzol, 17 et 22 % dans la Rendzine, en dessous de 20 % dans l'échantillon de surface du sol Andique. Dans l'Humine provenant de l'horizon A_1 de ce sol elle n'atteint pas 10 %.

- Dans le Podzol il doit s'agir, pour l'essentiel, de Cellulose et d'Hemicellulose héritées. Le groupe de signaux de la bande $70 < \delta < 80$ ppm caractéristique des $>$CH-OH ($C_{2,3 \text{ et } 5}$) des cycles glucopyranose se détache nettement du massif de résonances basal.

- Dans la Rendzine où l'activité biologique est importante la cellulolyse est relativement rapide. Une grande partie des polysaccharides qu'on retrouve dans l'Humine doivent dériver de la biomasse microbienne. Ces derniers présentent une grande diversité de configurations et conformations. Ils sont fortement ramifiés et substitués (riches en polyuronides et aminosucres) et forment des complexes polymoléculaires avec les protéines et polypeptides et avec des lipides. Les signaux des $>$CHOH (bande $70 < \delta < 80$ ppm) se démarquent beaucoup moins de ceux des autres types de carbone (carbones, autres qu'anomériques, participant de liaisons glycosidiques, carbones diversement substitués- par des $-OCH_3$, des CH_3COO-...) et qui se distribuent dans tout le domaine C.

2 - Les composants aromatiques prennent une part nettement moins marquée que les composants aliphatiques, les carbohydrates n'étant pas pris en compte, dans la structure de l'Humine des trois sols.

Le "taux d'aromaticité" diffère significativement d'un sol à l'autre. Il passe de 25 à 27 % dans l'Humine de la Rendzine à 33 à 35 % dans l'Humine du Podzol et dépasse 37 % dans celle de l'échantillon de surface du sol Andique.

- L'aspect du spectre, dans les domaines D et E peut fournir, toujours dans le cadre d'une analyse comparative, certaines indications sur la nature des constituants qui jouent un rôle particulier dans la structure.

- Sur le spectre de la Rendzine l'empreinte des motifs syringyle de la lignine est nettement décelable.

La lignine héritée doit prendre une part marquée dans le "spectre biochimique" de l'Humine de ce sol.

- La fraction aromatique de l'Humine du Podzol et de l'échantillon de surface du sol Andique comporte une proportion notable de motifs polyhydroxylés et (ou) polyhétérocycliques oxygénés participant ou dérivant de constituants autres que la lignine.

. Dans l'échantillon de surface du sol Andique il doit s'agir de polyphénols et (ou) flavonoïdes dérivant des cellules, qui n'ont pas encore été dégradés.

On ne les retrouve plus dans l'Humine de l'horizon A_1.

. Dans le Podzol il doit surtout s'agir de tannins catéchiques. L'empreinte des unités guaiacyl de la lignine est masquée sur les spectres de ces deux sols par les deux groupes de signaux caractéristiques de ces motifs (signaux de la bande $135 < \delta < 145$ ppm, signaux de la bande $95 < \delta < 115$ ppm). Elle ne devient décelable qu'après hydrolyse.

3 - La part que prennent les carbohydrates dans la structure de la fraction organique du sol et de l'Humine, donc la mesure dans laquelle ils déterminent le degré de fonctionalisation global, diffèrent fortement suivant le type d'Humus.

Un des objectifs de ce travail était de préciser la nature et l'importance des effets que pouvaient avoir les différents traitements, notamment les hydrolyses, sur les autres constituants et composants structuraux.

Dans cette optique nous avons cherché, entre autres, à établir s'ils modifiaient significativement leur composition fonctionnelle.

C'est donc le taux de fonctionalisation moyen de ces derniers, c'est-à-dire un "taux apparent" dans lequel les carbohydrates ne sont pas pris en compte, que nous déterminons et dont nous suivons la variation. La composition fonctionnelle étant définie par rapport à ce dernier.

— Les carbohydrates mis à part l'Humine du Podzol comporte une proportion plus élevée de composants structuraux peu fonctionalisés (motifs polyméthyléniques à longue chaine notamment) que celles de la Rendzine et du sol Andique.

Le taux de fonctionalisation oxycarboné moyen se situe ici entre 23 et 27 %, il est de l'ordre de 28 à 33 % dans l'échantillon de surface du sol Andique, de l'ordre de 30 à 35 % dans la Rendzine.

- La distribution des divers types de groupements oxycarbonés varie notablement d'un sol à l'autre.

. La part que prennent les groupements carboxyles (-COOH, esters anhydrides) et amide dans le schéma fonctionnel se situe respectivement entre 28 et 34 % dans l'Humine du Podzol (soit 6 % du C total), entre 39 et 45 % dans l'échantillon de surface du sol Andique (soit 10 à 12 % du C total). Elle dépasse 45 % dans l'Humine de la Rendzine (soit 12 à 14 % du C total).

— Dans cette dernière la contribution des groupements amide est nettement plus importante que dans le sol Andique et le Podzol.

— Dans ces derniers l'acidité carboxylique est, pour l'essentiel, associée aux composants aromatiques. Elle est réduite dans le Podzol (la proportion de carbones participant des groupements -COOH est inférieure à 2 %) sensiblement plus importante dans l'échantillon de surface du sol Andique (la proportion de carbones participant de groupements -COOH doit ici être au moins égale à 4 %).

Dans l'Humine de la Rendzine et dans celle provenant de l'horizon A_1 du sol Andique la proportion des -COOH associés à des motifs aliphatiques est nettement plus importante.

Dans la Rendzine il doit s'agir, pour une part importante de groupements carboxyles des acides uroniques.

—— Il n'est pas possible à partir des spectres RMN ^{13}C CP-MAS des échantillons de sol entier ou d'Humines de différentier les groupements -OH (alcool) esters et ether.

On peut tout au plus situer l'ordre de grandeur de la part qu'ils doivent prendre globalement dans le schéma fonctionnel (dans la mesure où la teneur en polysaccharides aura été déterminée préalablement).

Dans l'Humine du Podzol elle est supérieure à 50 %, elle n'atteint pas 45 % dans celle de l'échantillon de surface du sol Andique. Dans la Rendzine elle doit se situer entre 45 et 50 %.

4 - L'aspect du spectre dans la plage $0 < \delta < 60$ ppm fournit des indications sur la structure du squelette carboné des composants aliphatiques et notamment sur l'importance relative que prennent respectivement dans le schéma structural les motifs polyméthyléniques à longue chaine peu ou non ramifiés, les motifs linéaires fortement ramifiés ou réticulés et les motifs polycycliques saturés, les motifs à chaine courte participant des enchainements peptidiques (suivant la valeur du rapport C/N) ou portés par les unités structurales aromatiques.

- Dans l'Humine du Podzol la contribution relative des enchainements methyléniques $-(CH_2)_n-$ à n élevé, peu ou non ramifiés et peu fonctionalisés est particulièrement marquée.

Il doit s'agir, pour l'essentiel, de lipides saturés, linéaires, à longue chaine (cerides) qui entrent dans la constitution des membranes et des cuticules de cire (enrobant les aiguilles).

- Dans le sol Andique leur importance relative est plus réduite, même en A_0. Elle diminue notablement quand on s'éloigne de la surface.

L'activité biologique étant plus marquée dans ce sol que dans le Podzol les constituants lipidiques à chaine droite qu'on retrouve en A_1 doivent être fortement dégradés.

Les constituants ramifiés et, surtout, cycliques et polycycliques (stéroïdes) qui présentent une résistance nettement plus marquée voient leur importance relative augmenter.

- Dans la Rendzine les groupements polyméthyléniques ne contribuent que dans une mesure très réduite à la structure de l'Humine. Ils relèvent, pour l'essentiel, de l'Humine de précipitation.

Les motifs linéaires fortement ramifiés, riches en groupements méthyle et les motifs cycliques ou polycycliques prennent une part déterminante dans le schéma

structural. La contribution relative des motifs à chaine courte participant des enchainements peptidiques est également plus marquée que dans les deux autres types de sols.

Une proportion importante de ces composants structuraux doivent participer de constituants dérivant de la biomasse microbienne (Humine microbienne).

- La résolution accrue qu'apportent les appareils à haut champ devrait permettre d'afiner l'analyse de ce domaine $0 < \delta < 60$ ppm. ——

——→ La composition structurale de l'Humus est le reflet de sa "composition biochimique".

A partir des spectres RMN ^{13}C-CP-MAS d'échantillons de sol entier ou d'Humines on peut, dans le cadre d'analyses comparatives, obtenir des informations sur cette dernière.

Les exemples précédents en fournissent une illustration.

- Une démarche ultérieure devrait consister, à notre sens, à établir une collection de spectres de références à partir d'échantillons types de sols et d'Humines de "composition biochimique" connue : Mor, Moder, Mull calcique, Mull acide, Mull eutrophe, Mull chernozemique, Humus vertique, Humus formés en milieu hydromorphe.

—— L'analyse comparative de ces spectres permettra de dégager les critères structuraux les plus marquants à partir desquels on pourra caractériser et différentier ces diverses formes.

Pour déterminer la composition structurale de ces échantillons les indications qu'on pourra tirer des différents spectres (RMN ^{13}C-CP-MAS, ESCA, IR) seront confrontées avec les résultats qu'on aura obtenu par voie chimique classique (analyse fonctionnelle, dégadations hydrolytiques, oxydants et réductrices), précisées et afinées en tenant compte des informations complémentaires que peuvent apporter les fractionnements.

——→ En comparant le spectre de l'échantillon, de sol ou d'Humine, qu'on cherche à caractériser à ces spectres de référence on pourra établir de quel "modèle structural" il relève et donc obtenir des informations sur sa "composition biochimique" et, partant, sur le mode d'Humification et le degré d'évolution de la matière organique.

- Ceci implique que sa teneur en carbone organique dépasse un certain seuil- pour le moment (c'est-à-dire avec les appareils dont on dispose) ce dernier se situe à un niveau assez élevé (> 6 %) par rapport aux concentrations qu'on rencontre dans la plupart des sols- et qu'il ne contienne que des proportions faibles de constituants paramagnétiques et (ou) ferromagnétiques. Dans beaucoup de cas il sera donc nécessaire préalablement

. d'obtenir des échantillons relativement plus riches en carbone organique que le sol ou l'Humine de départ -le fractionnement physique pourra fournir la solution dans la mesure où le matériau organique se concentre préférentiellement dans certaines fractions granulométriques (fraction $\leq 2\mu$, comme c'est souvent le cas)-

. d'éliminer les sesquihydroxyles de fer ou d'extraire le fer (paramagnétique) des complexes qu'il forme avec les constituants organiques.

III - Matières organiques légères

Eléments figurés (radicelles, fragments de racines et d'organes aériens fibreux qui se décomposent relativement lentement), non liés au complexe organo minéral colloïdal, qu'on sépare par densimétrie (H_3PO_4 2M).

Elles constituent une des composantes du matériau organique primaire dont dérivent les produits humiques et qui peut s'incorporer après avoir subi une transformation partielle à la fraction non extractible -Humine héritée.-

Les spectres des matières organiques légères "extraites" de l'échantillon de surface du sol Andique sont représentés sur les figures (26 A et B).

Dans le domaine aliphatique (0 à 90 ppm) le spectre de cette fraction présente de nombreuses analogies avec le spectre de l'Humine du Podzol.

Dans le domaine aromatique (95 à 160 ppm) il s'apparente aux spectres qu'on obtient à partir des lignines.

+ Carbohydrates

Le pourcentage d'aire du massif C est de 27,5 %.

L'amplitude relative de la bande (-9-) est un peu plus faible que sur le spectre du Podzol. Sa forme est comparable à celle de la bande des polysaccharides du spectre de l'extrait aqueux qu'on obtient à partir de l'Humine de ce dernier (voir plus loin figure 31).

Par référence au Podzol on estime que le pourcentage de C participant de la fraction polysaccharidique doit être inférieur ici à 25 %.

Cette fraction est constituée d'Hemicelluloses et surtout de celluloses.

+ Taux d'aromaticité

Le pourcentage de carbones de type sp^2 se situe entre 32 et 35 %.

Ces derniers participent ici pour l'essentiel d'unités structurales de la lignine.

+ Taux de fonctionalisation

En admettant que le pourcentage de C participant des carbohydrates est de l'ordre de 22 à 24 %, le taux de fonctionalisation apparent se situe entre 27 et 30 %.

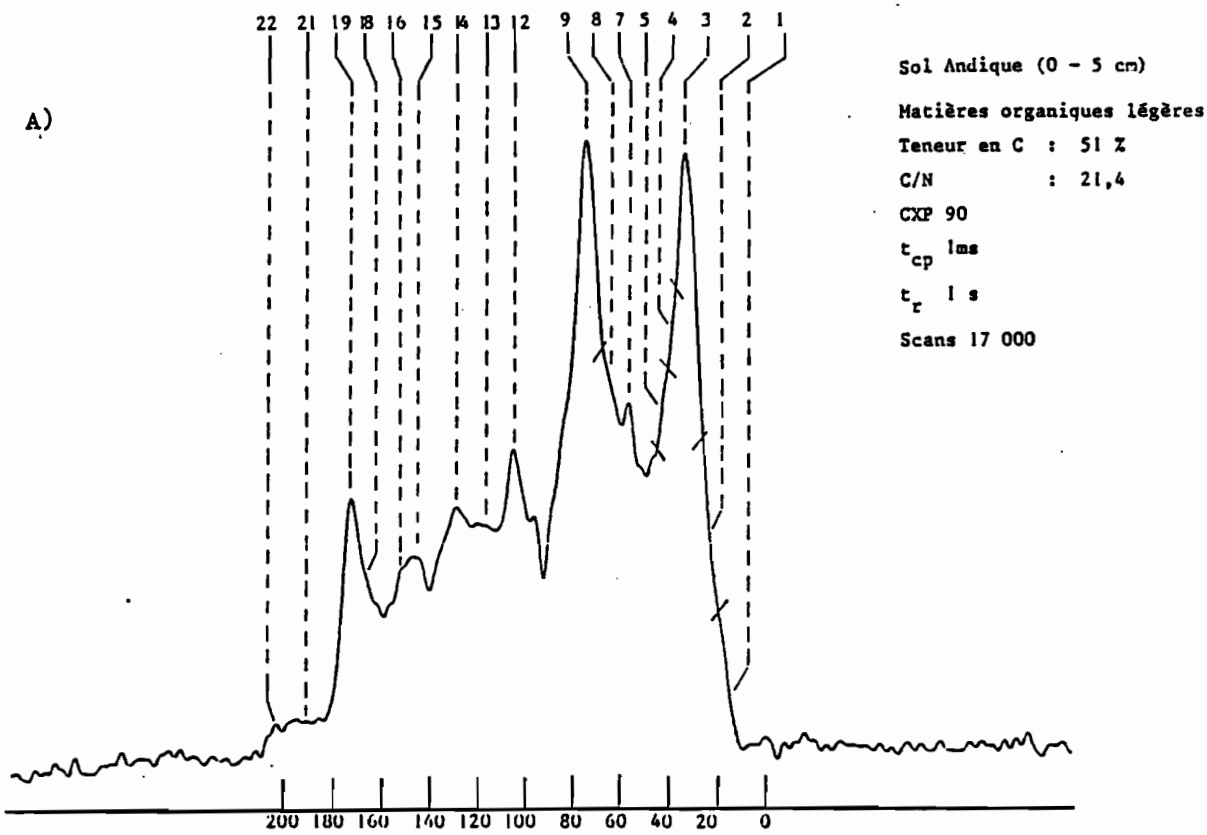
% E_N ne devrait pas dépasser 35 %. On estime dans ces conditions que le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné se situe entre 25 et 28 %.

De 38 à 42 % de ces carbones sont de type - $C\overset{O}{<}$.

La composante la plus marquée du massif F est centrée autour de 173 ppm.

Une proportion importante des carbones de ce type participent donc ici de groupements amide et esters (CH_3COO- des Hemicelluloses, lipides et cires).

La part prise par les -COOH liés aux unités structurales aromatiques et par les esters, amides et anhydride aromatiques est moins importante que dans la matière organique du sol entier.



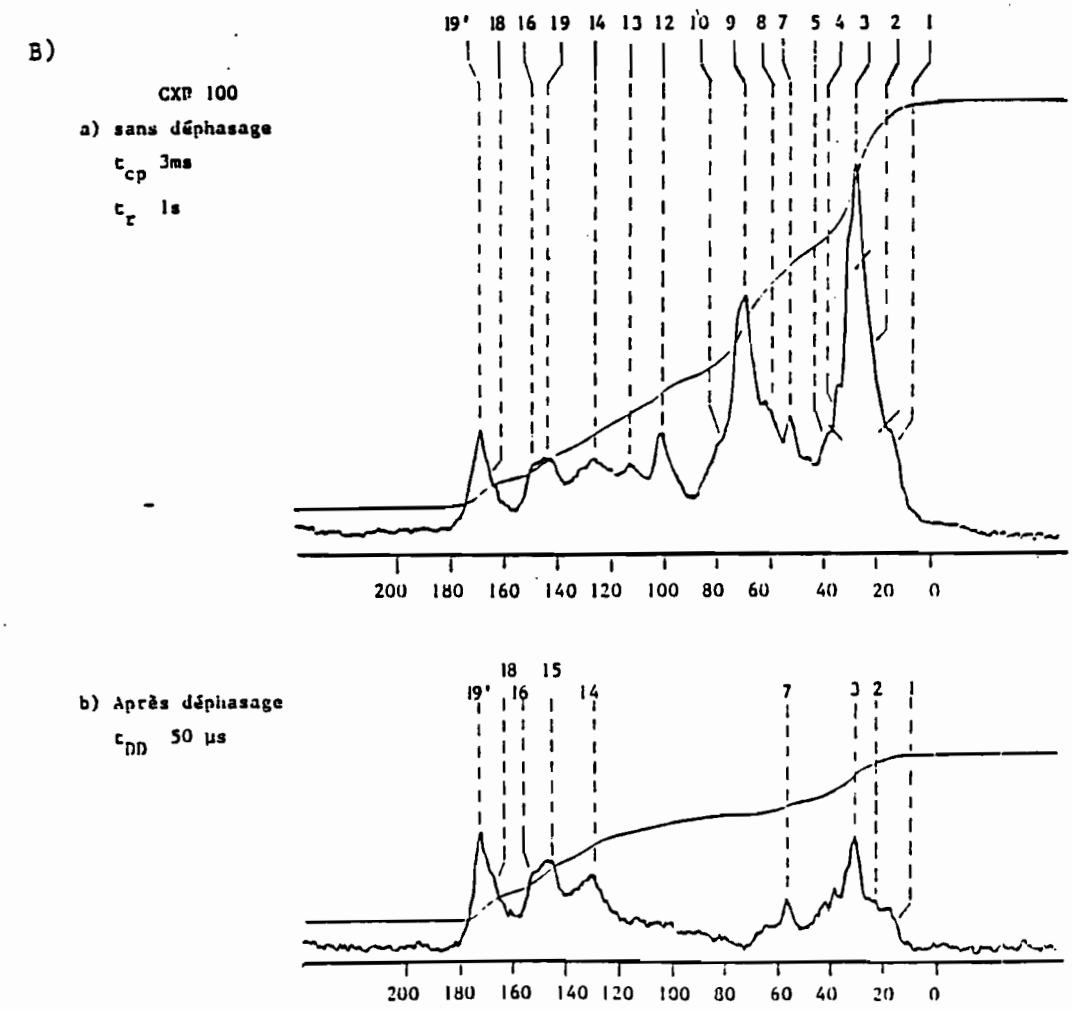


Figure : 26 Sol Andique (0 - 5 cm) Matières Organiques légères

La proportion des Csp^2 hétérosubstitués est de l'ordre de 25 à 30 %. Il s'agit pour l'essentiel de groupements oxygénés : $Ar-OCH_3$, Ar-OH et Ar-O-R du motif structural de la lignine.

+ Motifs structuraux aliphatiques

La bande (-3-) est bien marquée et se détache nettement des massifs de résonances A et B.

Sur le spectre obtenu à partir du CXP 100 et plus encore sur celui obtenu avec l'appareil à haut champ, elle se résoud, comme nous l'avons vu plus haut en plusieurs composantes.

• Le groupe de raies intenses centrées autour de 29 ppm correspondant aux $-CH_2-$ des motifs paraffiniques non ramifiés.

• Deux groupes de raies moins intenses mais plus dispersées qui contribuent aux épaulements qui doublent la bande étroite des $-(CH_2)_n-$ entre 31 et 33 ppm et entre 33 et 36 ppm et que nous associons aux $-\overset{|}{C}H-$ et à certains $-CH_2-$ de motifs répétitifs du type isoprenoïde -Les ($-CH_3$ de ces motifs contribuent à l'épaulement (-1-) bien marqué entre 5 et 20 ppm-)

Les motifs paraffiniques et isoprenoïdes à longue chaine tiennent donc une place importante dans le schéma structural de la "matière organique fraiche", c'est-à-dire du matériau primaire dont dérivent les constituants humiques.

- L'épaulement (-2-) entre 24 et 27 ppm est dû pour moitié au moins aux signaux de groupements protonés autres que $-CH_3$ (c'est-à-dire dans lesquels les ^{13}C déphasent rapidement) : $-CH_2-$ de chaines isoprenoïdes, $-CH_2-$ d'acides aminés. Certains $-CH_2-$ des motifs polycycliques résonnent également dans cette plage de fréquences.

Une partie des signaux qui contribuent au massif de résonances résiduelles très étalé entre 30 et 70 ppm sur le spectre obtenu après déphasage dipolaire correspondent à des carbones quaternaires.

Des motifs ramifiés, linéaires ou cycliques (terpenoïdes entre autres) doivent participer du schéma structural de ce matériau. Il n'est cependant pas possible d'évaluer la part qu'ils prennent réellement.

B) Fractions "solubles - Acides Humiques

Les spectres d'acides Humiques extraits successivement par le pyrophosphate de NaO,1 M (pH 11) et la soude 0,1 N à partir des deux échantillons du sol Andique provenant de l'horizon A_o et de l'horizon A_1 (15-25 cm) sont représentés sur les figures 28, 29 et 30.

N.B. : Les spectres des acides Humiques de A_o ont été obtenus avec le CXP90.

Ceux des acides Humiques de A_1 avec le CXP100. Dans ce dernier cas on dispose en plus des spectres CP-MAS-DD (t_{DD} 50 μs).

- Les deux types d'acides Humiques présentent un certain nombre de différences structurales significatives.

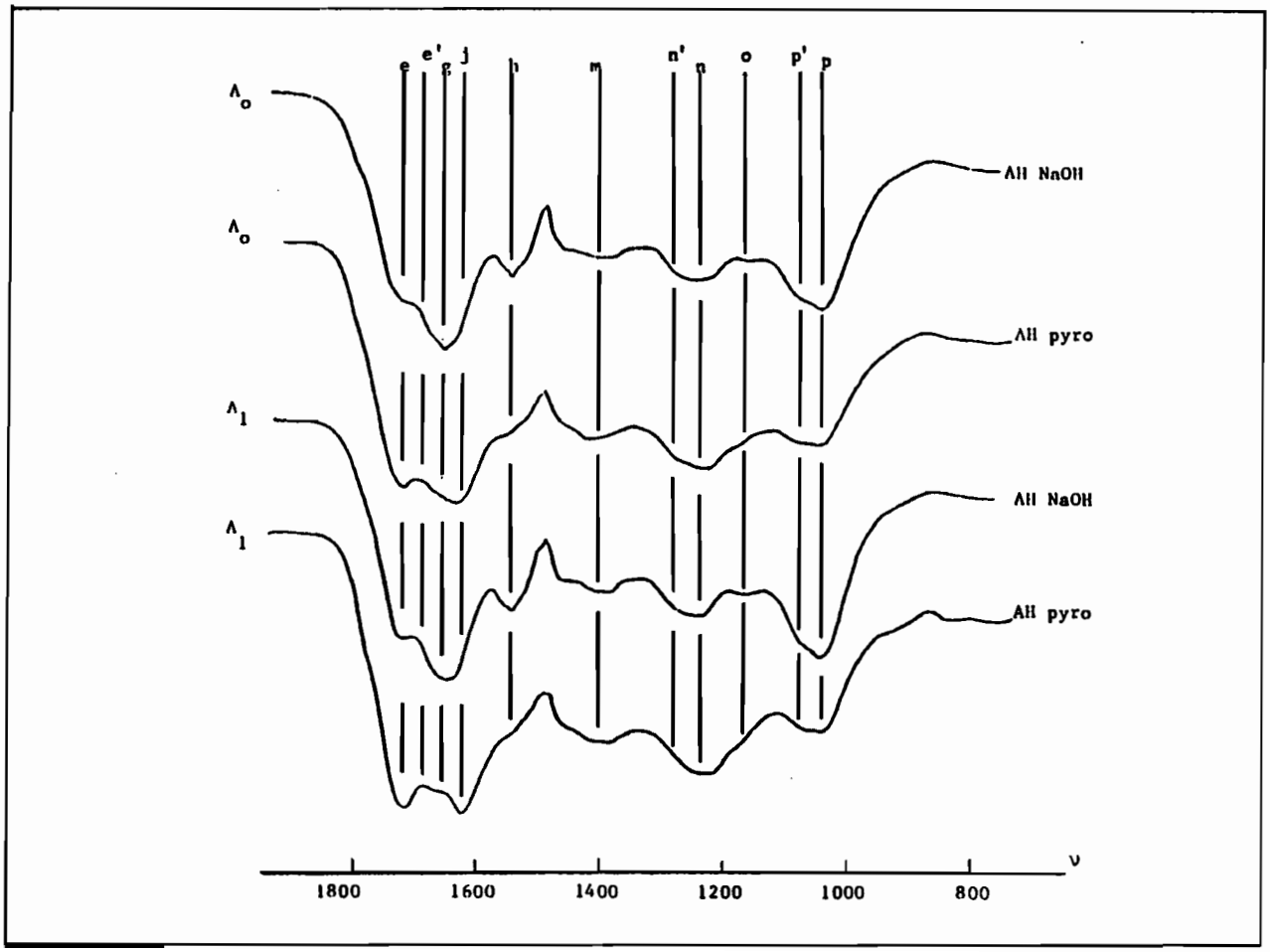
+ Carbohydrates

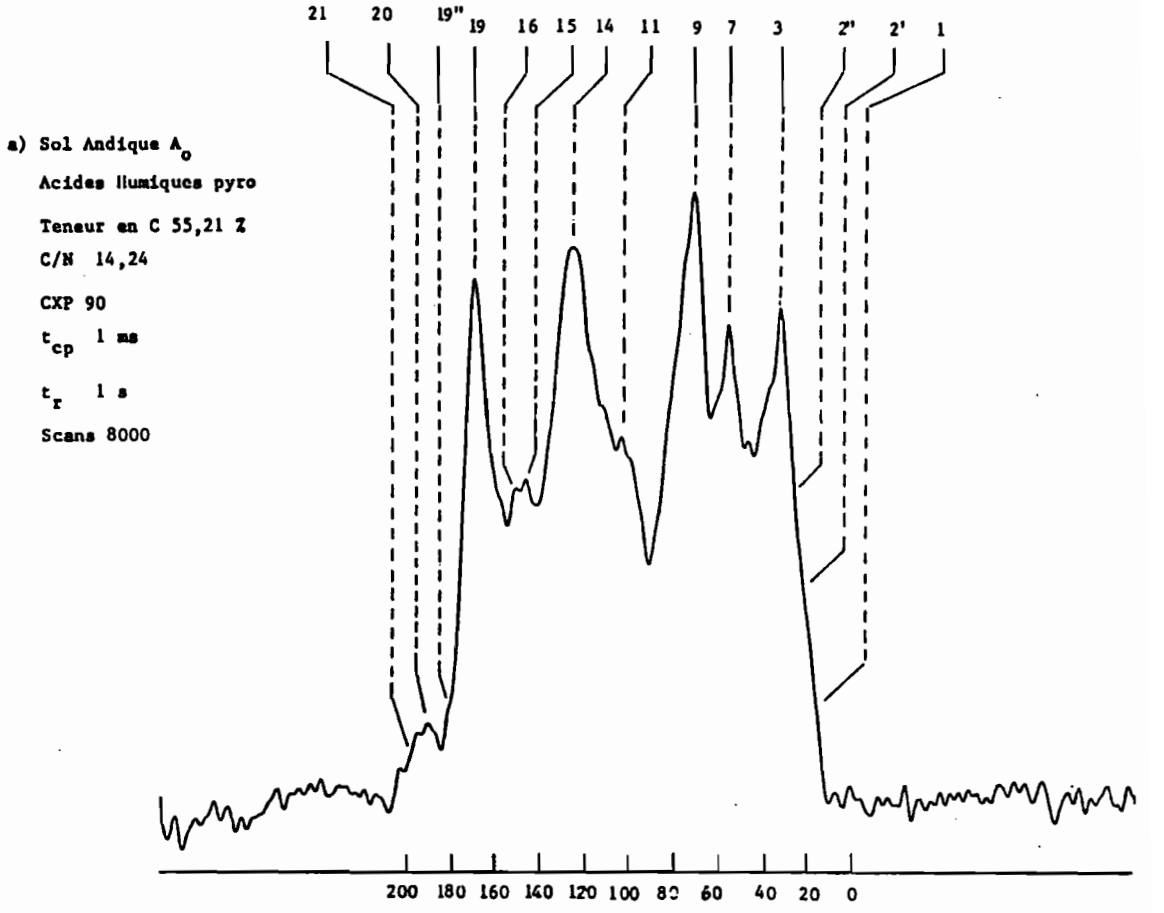
- Les acides Humiques NaOH sont nettement plus riches en carbohydrates que les homologues pyro-

- Dans l'échantillon de surface le pourcentage d'aire du domaine C est de 25 % sur le spectre des premiers contre 22 % sur celui des seconds.

. Sur les spectres des acides Humiques provenant de A_1 ces pourcentages sont respectivement de 23 % et 16 %.

- La comparaison des spectres IR, dans la plage ν allant de 1200 cm^{-1} à 1000 cm^{-1} (voir figure 27)




21 20 19" 19 16 15 14 11 9 7 3 2' 2' 1
a) Sol Andique A_o
Acides Humiques pyro
Teneur en C 55,21 %
C/N 14,24
CXP 90
t_{cp} 1 ms
t_r 1 s
Scans 8000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

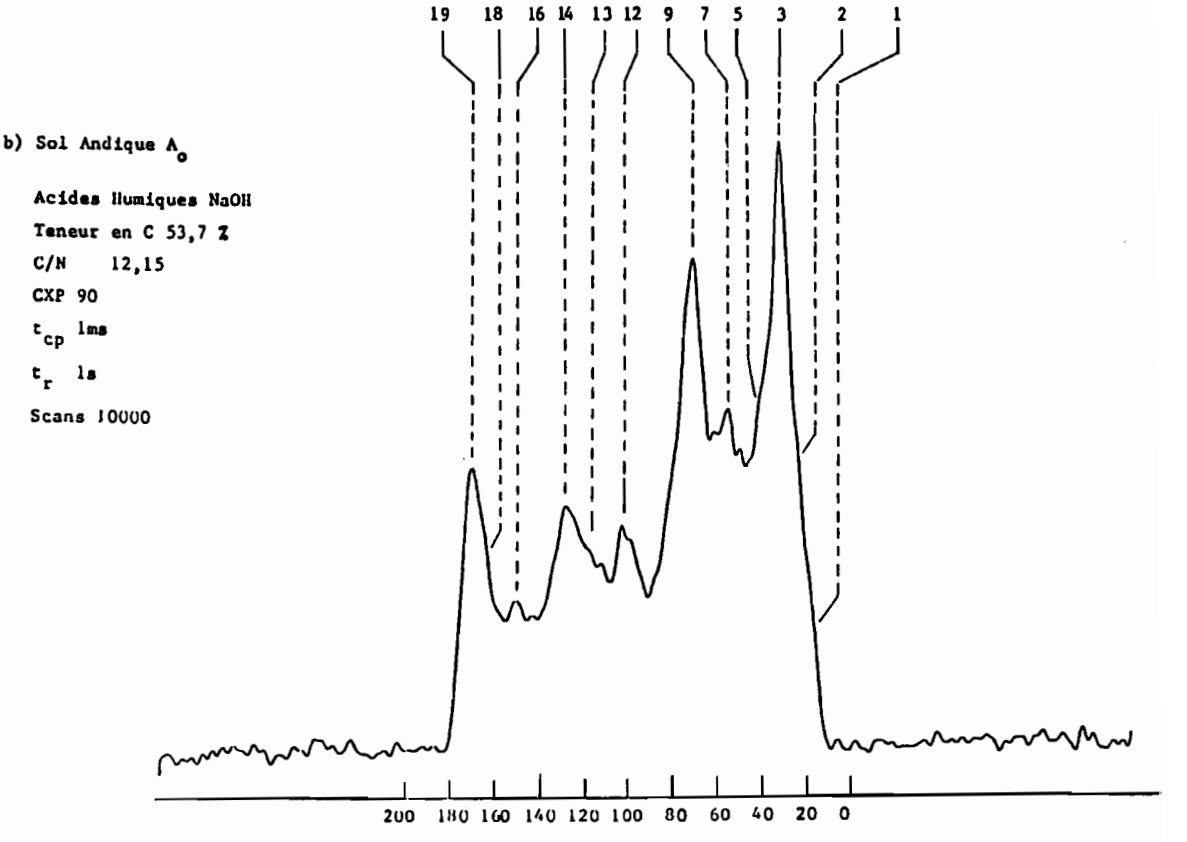
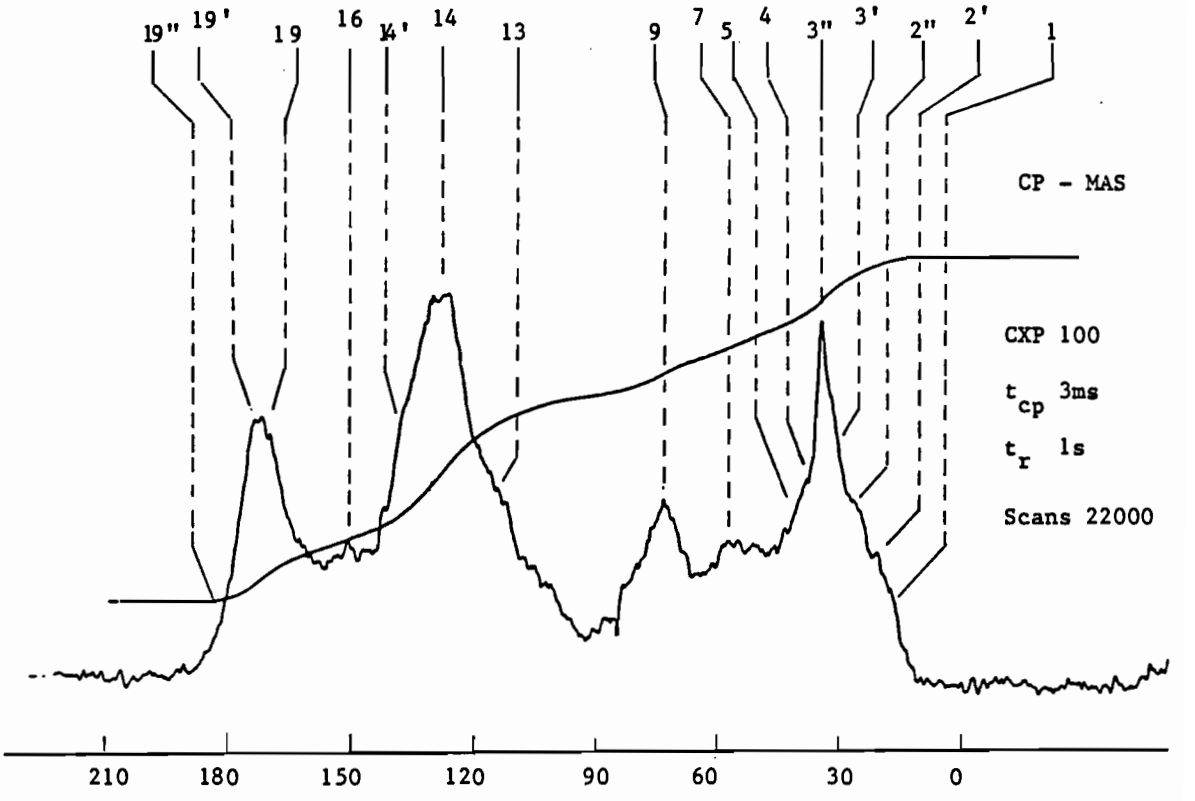

19 18 16 14 13 12 9 7 5 3 2 1
b) Sol Andique A_o
Acides Humiques NaOH
Teneur en C 53,7 %
C/N 12,15
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans 10000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 28

Sol Andique A_1 Acides Humiques Pyro



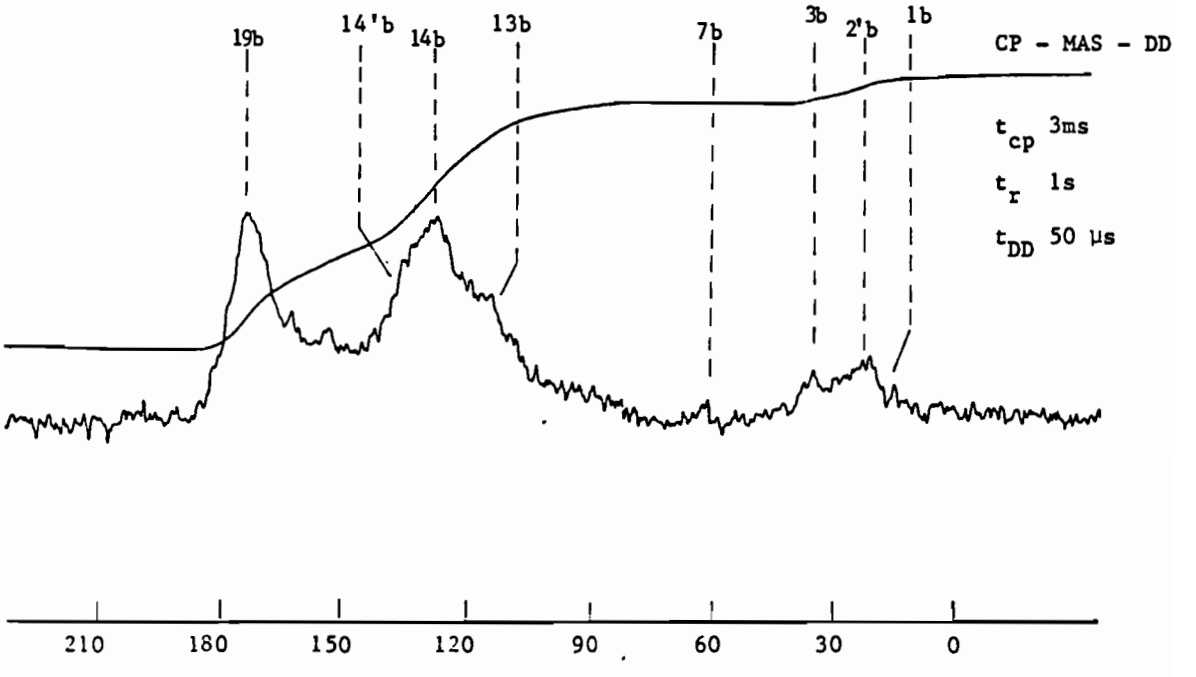


Figure 29

Sol Andique A_1 : Acides Humiques NaOH

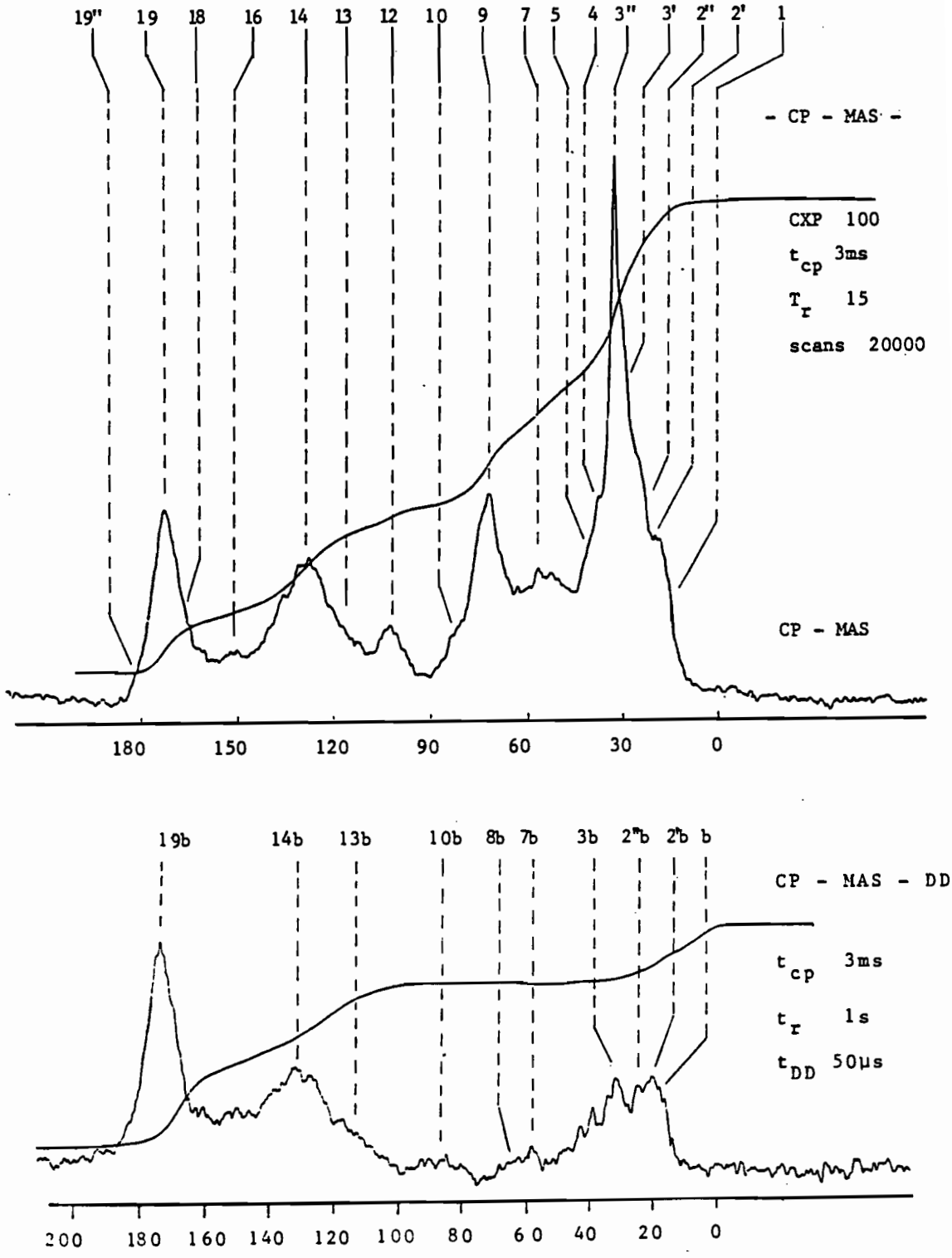


Figure 30

indique que la différence entre les pourcentages de C participant des carbohydrate dans les deux types d'extraits doit en fait être nettement plus importante que ne le laisse supposer, à priori, l'écart entre les pourcentages d'aire du domaine C sur les spectres RMN correspondants.

. Le massif d'absorption (P) entre 1050 et 980 cm^{-1} qui correspond pour l'essentiel aux vibrations ν C-O et δ OH couplées des groupements $-CH_2OH$ et $>$CHOH du cycle des oses, ainsi que le maximum (-O-), vers 1130 cm^{-2} qui peut être associé aux carbones anomériques, sont nettement plus marqués sur le spectre IR des acides Humiques NaOH que sur celui des acides Humiques pyro.

. Le massif d'absorption (-n-), entre 1260 cm^{-1} et 1190 cm^{-1}, associé aux vibrations ν C-O et γ CO-O des esters aliphatiques, et l'épaulement (p') entre 1130 et 1070 cm^{-1} qui correspond aux vibrations ν C-O des ethers (ainsi que de l'alcool des esters) sont également bien marqués sur les spectres des deux types d'acides Humiques.

— La contribution des groupements oxycarbonés, autres que ceux participant des polysaccharides -ethers et esters notamment- doit être notable au niveau du massif C des spectres RMN correspondants.

— On estime que dans les acides Humiques NaOH le pourcentage de C engagés dans les carbohydrates doit être au maximum de 20 % en A_o, légèrement inférieur à 20 % en A_1.

— Dans les acides Humiques pyro il doit se situer autour de 15 % en surface. En A_1 il doit être inférieur à 10 %.

+ Taux d'aromaticité

En admettant que la contribution relative des carbones sp^2 non aromatiques est en gros du même ordre, dans les deux cas, le taux d'aromaticité des acides humiques pyro est nettement plus élevé que celui des homologues NaOH.

- La somme des pourcentages d'aire des domaines E et D (déduction faite de la contribution des carbones anomériques) se situe respectivement

. dans l'échantillon de surface, autour de 32,5 % dans les acides humiques pyro et de 22,5 % dans les acides humiques NaOH.

. dans l'échantillon (15-25 cm), autour de 42 % dans les premiers et 19,5 % dans les seconds.

- Dans les acides humiques NaOH la proportion de carbones sp^2 protonés est plus importante que dans les homologues pyro.

Dans l'échantillon (15-25 cm) le pourcentage de Csp^2 quaternaires (non hétérosubstitués) peut être estimé à partir de l'aire du massif de résonance D sur le spectre obtenu après déphasage dipolaire. Il est de l'ordre de 68 à 75 % dans les acides humiques pyro contre 48 à 55 % dans les acides humiques NaOH.

Taux de fonctionalisation

Sur la base des teneurs en carbohydrates retenues plus haut on estime que le taux de fonctionalisation apparent se situe

. en A_o entre 30 et 34 % dans les acides Humiques NaOH
au dessus de 35 % dans les acides Humiques pyro

. en A_1 entre 25 et 30 % dans les acides Humiques NaOH
au dessus de 30 % dans les acides Humiques pyro.

Les C/N des deux types d'acides Humiques étant voisins ce sont surtout les teneurs en groupements oxycarbonés qui doivent différer.

En admettant que % E_N < 50 %, les taux apparents de fonctionalisation oxycarbonés doivent se situer

. en A_o entre 27 et 30 % dans les acides Humiques NaOH
au dessus de 30 % dans les acides Humiques pyro

. en A_1 entre 20 et 24 % dans les acides Humiques NaOH
entre 25 et 30 % dans les homologues pyro.

Remarque : Les pourcentages de C participant de groupements oxycarbonés, déterminés à partir des spectres ESCA sont respectivement
de 42,2 ± 2 % dans les acides Humiques NaOH de A_1
de 36 ± 2 % dans les acides Humiques pyro correspondants.

Ces pourcentages prennent en compte les C engagés dans les groupements alcool et anomérique des polysaccharides.

Nous avons estimé, à partir des spectres RMN que les pourcentages de C participant des carbohydrates devraient être compris respectivement, entre 17 et 20 % dans les acides Humiques NaOH (de A_1) entre 8 et 10 % dans les homologues pyro.

En se basant sur ces valeurs les pourcentages globaux de C participant de groupements oxycarbonés, estimés à partir des spectres RMN, devraient se situer
entre 37 et 44 % dans les acides Humiques NaOH
entre 33 et 40 % dans les acides Humiques pyro.

Les résultats RMN et ESCA se recoupent donc assez bien.

- Le taux de fonctionalisation oxycarboné des acides Humiques pyro est significativement supérieur à celui des acides Humiques NaOH.

- Le taux de fonctionalisation oxycarboné global diminue avec le temps. Il est sensiblement plus faible dans les extraits, pyro et soude, provenant de A_1 que dans ceux provenant de A_o.

- La distribution du C entre les différents types de groupements oxycarbonés n'est pas la même dans les deux types d'acides Humiques.

— Les pourcentages de C (oxygénés) participant de groupements $-C\overset{O}{\diagdown}$ se situent respectivement

. en A_o entre 50 et 55 % dans les acides Humiques NaOH
au dessus de 60 % dans les acides Humiques pyro

. en A_1 entre 47 et 53 % dans les acides Humiques NaOH
nettement au dessus de 65 % dans les homologues pyro.

. Sur le spectre(CXP90) des acides Humiques NaOH de A_o le maximum (-19-) du massif F est centré autour de 173 ppm.

Sur le spectre des acides Humiques pyro il est centré autour de 169 ppm. La contribution relative des signaux qui apparaissent dans la plage de δ allant de 170 à 180 ppm (amides et - $C\lessgtr^{O}_{O}$ - aliphatiques) est plus importante dans les premiers alors que dans les seconds c'est les - $C\lessgtr^{O}$ liés aux unités structurales aromatiques qui doivent prédominer.

. Sur les spectres mieux résolus qu'on obtient avec le CXP100

- dans le cas des acides Humiques pyro la composante (-19-) présente deux maximas centrés respectivement autour de 174 ppm (-19"-) et autour de 169 ppm (-19-).

- dans le cas des acides Humiques NaOH les signaux qui apparaissent dans la plage de δ allant de 160 à 170 ppm sont nettement moins marqués et le maximum (-19-) est centré autour de 173 ppm.

En A_1 la part prise par les groupements -COOH, amide esters et anhydride associés aux unités structurales aromatiques nettement plus importante dans les acides Humiques pyro que dans les acides Humiques NaOH.

<u>En recoupant les données qu'on tire de l'analyse des spectres RMN avec celles que fournissent les spectres IR il est possible d'affiner l'analyse.</u>

+ Sur les spectres IR des quatre acides Humiques analysés ici (voir figure) la bande (-e-) entre 1710 et 1730 cm^{-1} est toujours bien marquée.

Cette bande correspond, pour l'essentiel, aux vibrations ν C = O des groupements -COOH portés par les chaines aliphatiques et des groupements aryl-alkyl esters (Ar-COO-R).

Les -COOH liés aux noyaux aromatiques absorbent entre 1660 et 1700 cm^{-1} (-e'-)

L'intensité et la multiplicité des raies ν C = O et δ OH des différents groupements (-COOH, amide, esters, anhydride) qui contribuent au massif F du spectre RMN, varient considérablement d'un type de groupement à l'autre et en fonction de l'environnement chimique dans lequel ils se trouvent placés -les raies ν C-O des -COOH sont étroites et très intenses-

L'importance relative de la bande (-e-) ne saurait donner à elle seule la vraie mesure de la part prise par les -COOH aliphatiques dans le schéma fonctionnel.

<u>L'analyse comparative des spectres IR des quatre types d'acides Humiques permet cependant de conclure que :</u>

. une partie des signaux qui contribuent à la composante (-19'-, ou -19- si cette dernière n'est pas différentiée) du massif F, sur les spectres RMN des quatre acides Humiques étudiés ici, sont associés à des -COOH portés par des chaines aliphatiques.
. la part relative prise par ces groupements dans le schéma fonctionnel est significativement plus importante dans les acides Humiques pyro que dans les homologues NaOH (si on tient compte du fait que les premiers sont plus aromatiques que les seconds).
. dans les acides Humiques pyro extraits de A_1 elle est sensiblement plus importante que dans ceux extraits de A_o. (Le massif d'absorption (m) entre 1410 et 1440 cm^{-1}, qui correspond pour l'essentiel aux vibrations ν C-O partiellement couplées aux δ OH des -COOH aliphatiques et aromatiques, est plus marqué sur le spectre de cette fraction que sur les trois autres).

+ Sur le spectre IR des acides Humiques NaOH les bandes Amide II (h) autour de 1540 cm^{-1} et Amide I (g) autour de 1650 cm^{-1} sont bien individualisées.

Leur empreinte est à peine marquée sur les spectres des acides Humiques pyro, surtout ceux provenant de A_1.

—— Sur les spectres RMN des acides Humiques NaOH une proportion notable des signaux qui contribuent à la "composante aliphatique" de la bande (-19-) et à l'épaulement (-18-) doivent donc correspondre aux $-C\overset{O}{<}$ participant de groupements amide : -CHR-CO-NH-CHR'- pour la bande (-19-), Ar-CO-NH-CHR'- pour l'épaulement (-18-).

+ Le massif d'absorption (-n-) entre 1210 et 1250 cm^{-1}, bien marqué sur les quatre spectres IR, correspond, pour l'essentiel aux raies ν C-O de groupements phenols, ν C-O et γ C-CO-O de groupements esters aliphatiques.

A concentrations équivallentes les raies ν C-O des groupements esters sont en général plus intenses que les raies ν C-O et ν C = O des autres groupements carboxylés qui résonnent dans la plage de fréquences correspondant aux δ allant de 170 à 185 ppm.

Des $-C\overset{O}{\underset{O}{<}}-$ participant de groupements esters aliphatiques doivent contribuer à la bande (-19-) ou (-19'- lorsqu'elle est différentiée) du massif F sur les spectres RMN des quatre acides Humiques considérés.

La part qu'ils prennent dans le schéma fonctionnel est plus marquée dans les acides Humiques pyro, surtout ceux provenant de A_1 que dans les homologues NaOH où ce sont les groupements amide qui doivent prédominer relativement.

<u>Remarque</u> : Dans les acides Humiques extraits de A_1, le pourcentage de C participant de groupements $>C = O$ (amides pour l'essentiel), évalué à partir des spectres ESCA, est de l'ordre de 9 à 10 %, contre 4 à 5 % pour les C participant de groupements carboxylés (-COOH, esters).

Dans les homologues pyro ces pourcentages sont respectivement de 4 à 5 % pour les $>C = O$, contre 10 à 12 % pour les groupements carboxylés.

- Parmi les groupements carboxylés, les R-CH-COO-R ne doivent pas prendre plus d'importance relative que les -COOH et les groupements anhydrides (épaulement nettement marquée entre 1750 et 1820 cm^{-1} sur l'ensemble des spectres IR).

+ L'analyse et la confrontation des données fournies respectivement par les spectres RMN, IR et ESCA montre que :

- Les acides Humiques pyro présentant une acidité carboxylique nettement plus élevée que les acides Humiques NaOH.

Les -COOH correspondants sont associés aussi bien aux unités structurales aliphatiques qu'aromatiques.

- Cette acidité croit avec le temps. Les acides Humiques pyro extraits de A_1 sont nettement plus riches en -COOH, surtout en -COOH aliphatiques que ceux provenant de A_o.

N.B. : Swift et Pozner [88] en appliquant la même technique d'extraction sequentielle à des proudits de décomposition de végétaux dans le cadre d'un essai de longue durée ont montré (par analyse fonctionnelle par voie humide) que les extraits au pyrophosphate présentaient une acidité carboxylique croissant avec le temps et nettement supérieure à celle des extraits à la soude.

- Dans les extraits pyro de l'échantillon de surface la proportion de -COOH aromatiques est relativement plus importante que celle des -COOH associés à des motifs aliphatiques.

- Dans les acides Humiques NaOH la plus grande partie de l'azote doit participer de groupements amide.

Il peut s'agir ici des groupements -CO-NH- des chaines latérales des macromolécules humiques [51] ou liant ces dernières aux unités structurales aromatiques du nucleus (groupements contribuant à l'épaulement -18-).

- Le C/N des acides Humiques NaOH différant peu de celui des acides Humiques pyro, dans ces derniers une proportion relativement importante de l'azote doit être de type non peptidique. La part prise par les amino acides et les amino glucides doit être relativement importante dans ces extraits.

- A noter dans les extraits pyro de A_o la présence de teneurs appréciables de groupements quinones (épaulement -21-) et aldehydes (épaulement -21-) qu'on ne retrouve pas dans les acides Humiques NaOH, ni dans les homologues pyro provenant de A_1.

A noter également que la part prise par les groupements $-OCH_3$ diffère significativement dans les deux types d'extraits provenant de A_o -elle est particulièrement marquée dans les acides Humiques pyro (bande -7- intense sur le spectre RMN, épaulement -n'- sur le spectre IR)-

Elle diminue avec le temps. La bande (-7-) se différentie encore à peine du massif B sur les spectres RMN des acides Humiques de A_1.

- Les pourcentages de carbones sp^2 hétérosubstitués se situent

. en A_o entre 19 et 23 % dans les acides Humiques pyro
au dessus de 24 % dans les acides Humiques NaOH

. en A_1 autour de 17 % dans les acides Humiques pyro
entre 18 et 20 % dans les acides Humiques NaOH.

La composition fonctionnelle de la fraction aromatique diffère sensiblement dans les deux types d'acides Humiques.

- Les acides Humiques pyro sont relativement moins riches en Csp^2 hétérosubstitués c'est-à-dire en groupements phenols et ether que les homologues NaOH.

Remarque : Les extraits pyro provenant de A_o doivent contenir encore des proportions appréciables de produits de dégradation de la lignine, comme en atteste l'importance relative que prennent dans cette fraction les groupements $-OCH_3$ et aldehyde.

Les produits de coupure peu condensés provenant de la biodégradation de la lignine sont extraits par les réactifs alcalins doux. Le fait qu'on les retrouve ici en proportions nettement plus importantes dans les extraits pyro que dans les extraits sodiques est vraisemblablement dû à ce que l'extraction pyro intervient en premier.

La presence de ces constituants explique que la proportion de Csp^2 hétérosubstitués soit significativement plus élevée dans les extraits provenant de A_o que dans ceux provenant de A_1.

- Dans les acides Humiques pyro la proportion de Csp^2 de type quaternaire c'est-à-dire alkyle substitués ou participant de motifs polyaromatiques (C communs à deux cycles adjacents) est nettement plus élevée que dans les acides Humiques NaOh.

Si on prend le cas des extraits provenant de A_1, où on dispose du spectre relevés après déphasage dipolaire, on peut estimer que sur 6 carbones aromatiques, en moyenne :

. dans les acides Humiques pyro	0,9 à 1,1	sont protonés
	0,8 à 1	sont hétérosubstitués
	3,9 à 4,3	sont de type quaternaire
. dans les acides Humiques NaOH	1,7 à 1,9	sont protonés
	1 à 1,3	sont hétérosubstitués
	2,9 à 3,3	sont de type quaternaire.

Dans les acides Humiques pyro une proportion notable des carbones aromatiques de type quaternaire doivent être des Csp^2 portant un groupement -COOH.

Composantes aliphatiques

Les pourcentages d'aire du domaine A se situe

. en A_o autour de 16 % dans les acides Humiques pyro
autour de 24 % dans les acides Humiques NaOH

. en A_1 autour de 19 % dans les acides Humiques pyro
autour de 35 % dans les acides Humiques NaOH.

- La part prise, dans le schéma structural, par les groupements qui contribuent à la bande (-3-) est nettement plus importante dans les acides Humiques NaOH que dans les homologues pyro.

- Ces derniers sont relativement plus riches en $-CH_3$. Dans les extraits provenant de A_1 le rapport (CH_3/CH_2 + CH) est respectivement de 21 dans les acides Humiques pyro et de 17 dans les acides Humiques NaOH.

- Sur les spectres obtenus avec le CXP100 la bande (-3-) se résoud en deux composantes, nettement individualisées, (-3'-) et (-3"-) centrées respectivement autour de 29 ppm et 33 ppm.

. Les ^{13}C qui contribuent à la composante (-3"-) déphasent plus rapidement (après un déphasage dipolaire de 25 μs) que ceux qui contribuent à la composante (-3'-).

Nous avons vu plus haut que si certains $-CH_3$ et carbones quaternaires résonnent dans la plage de fréquences couverte par la bande (-3-), leur contribution relative doit être réduite et les deux composantes (-3'-) comme (-3"-) correspondent pour l'essentiel aux signaux de $-CH_2-$ et $>CH-$ qui prennent une importance particulière dans le schéma structural.

. (-3"-) est mieux définie, c'est-à-dire moins large, que (-3'-).

- Le groupe de signaux intenses de la composante (-3"-) correspond à des groupements participant de motifs de type répétitif présentant des conformations définies.

Il doit s'agir ici des $-(CH_2)_n-$ de chaines paraffiniques longues, peu ou non ramifiées.

Remarque : Sur le spectre des matières organiques légères la composante que nous avons associé à ces motifs était centrée autour de 29 ppm. Le fait que cette composante soit ici décalée de 3 à 4 ppm, dans le sens du champ décroissant, signifie que dans les fractions humiques les ^{13}C de ces groupements sont soumis à des conditions de champ local quelque peu différentes (conséquences de liaisons intermoléculaires ou d'effets conformationnels particuliers).

- La composante (-3'-) peut être associée, en partie du moins, à des motifs structuraux dans lesquels les $-CH_2-$ et $>CH-$ concervent une mobilité appréciable.

Tel est le cas, entre autres, des $>CH-$ et $-CH_2-$ des groupements $-CH(CH_3)_2$ et $-CH_2-CH_3$ terminaux de certaines chaines aliphatiques [54].

. le δ du C du radical methine des groupements isopropyle terminaux est compris entre 29 et 31 ppm (Les $-CH_3$ correspondants contribuent à l'épaulement (-2'-) entre 20 et 24 ppm ou -2"- si ces groupements sont portés par un C sp^2 aromatique.

- Des groupements $-CH<$ de ce type doivent contribuer à la composante (-3'-), à côté des $-(CH_3)-$ et de $-(CH_2)_n-$ relevant d'environnements chimiques différents et de conformations plus diversifiées que ceux dont participent les $-(CH_2)_n-$ des motifs paraffiniques à longue chaine.

. Les $-CH_2-$ en α d'un méthyle terminal contribuent à l'épaulement (-2'-) s'ils sont en γ ou plus d'un carbone aromatique, à l'épaulement (-2"-) s'ils sont en α ou β d'un tel carbone.

L'analyse des spectres obtenus après déphasage dipolaire "long" (> 50 μs) (voir figure 30,p.96) montre que les groupements $-CH_2-$ doivent contribuer pour près de 50 % à l'épaulement (-2"-).

- Dans les acides Humiques pyro si l'on tient compte de l'importance relative des Csp^2 alkyle substitués et du rapport CH_3/CH_2 + CH relativement élevé une bonne partie des signaux qui contribuent aux épaulements (-1-), (-2'-) et (-2"-) et à la composante (-3'-) doivent correspondre à des $-CH_3$, $-CH_2-$ et $>CH-$ de chaines latérales courtes du type propyle et isopropyle reliées aux unités structurales aromatiques du "nucleus" par des liaisons C-C.

- Dans les acides Humiques NaOH où la proportion de Csp^2 de type quaternaire est nettement plus faible (ainsi que le rapport CH_3/CH_2 + CH) la part relative prise par les C participant de tels motifs doit être plus réduite.

Une fraction notable des signaux contribuant aux épaulements (-1-), (-2'-) (-2"-) et à la composante (-3'-) doivent correspondre ici à des $-CH_3$, $-CH_2-$ et $>CH-$ participant de structures aliphatiques ramifiées (de type isoprénoïde notamment) ou de motifs polycycliques.

- Dans les acides Humiques pyro la contribution des chaines paraffiniques longues est assez réduite alors que dans les homologues NaOH ces dernières prennent une part très importante dans le schéma structural.

— Leur importance relative augmente avec le temps. Elle est nettement plus marquée dans l'extrait sodique provenant de A_1 que dans celui qu'on obtient à partir de l'échantillon de surface.

En résumé

Les acides Humiques extraits respectivement par le pyrophosphate de Na 0,1 M et la soude 0,1 N présentent des différences structurales significatives.

1. - Les extraits sodiques contiennent des teneurs en polysaccharides sensiblement plus élevées que les "extraits pyro"

2. - Le taux d'aromaticité des acides Humiques pyro est nettement plus important que celui des homologues NaOH.

Il augmente avec le temps (c'est-à-dire dans le profil au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la surface).

→ La structure et la composition fonctionnelle de la fraction aromatique diffèrent quelque peu dans les deux types d'acides Humiques.

Les acides Humiques extraits par NaOH sont relativement plus riches en carbones sp^2 protonés et hétérosubstitués alors que dans les acides Humiques extraits par le pyrophosphate plus de la moitié des carbones sp^2 sont de type quaternaire -La proportion de Csp^2 alkyle-substitués doit être plus importante ici que dans les acides Humiques NaOH-

3. - Les acides Humiques pyro sont nettement plus riches en groupements oxycarbonés que les homologues NaOH.

Le taux de fonctionalisation oxycarboné diminue avec le temps. Cette diminution est plus marquée dans les acides Humiques NaOH que dans les acides Humiques pyro.

La composition fonctionnelle diffère significativement dans les deux types d'extraits.

- Les acides Humiques pyro présentent une acidité carboxylique nettement plus élevée que les acides Humiques NaOH. Les -COOH sont liés aussi bien aux chaines et motifs aliphatiques qu'aux unités structurales aromatiques.

Dans les acides Humiques pyro elle augmente avec le degré d'évolution du matériau. Cette augmentation semble surtout concerner les -COOH aliphatiques.

- Les teneurs en N des deux types d'extraits sont voisines.

Dans les acides Humiques NaOH la plus grande partie de l'azote doit être de type peptidique.

Dans les produits extraits par le pyrophosphate d'autres formes d'azote prennent plus d'importance relative - amino acides et amino sucres (vraisemblablement fixés au niveau des unités structurales aromatiques du nucleus par l'intermédiaire de liaisons esters, ether et amide), atomes d'azote et groupements azotés pontants du nucleus.

- Les extraits pyro sont plus riches en groupements esters que les extraits NaOH, surtout en A_1.

4. - Si on se refère au modèle de Martin et al [54] le squelette carboné des macromolécules Humiques doit comporter à côté des unités structurales constituant le nucleus -motifs aromatiques, polyaromatiques, heteroaromatiques et groupements pontants qui les relient entre eux- et des chaines latérales diversement substituées, de longueur variable, une proportion notable de chaines alkyles courtes, non fonctionalisées, reliées aux unités structurales aromatiques du nucleus par des liaisons C-C.

—— Dans les acides Humiques NaOH les chaines substituées sont, pour l'essentiel du type peptidique - chaine longues, relativement peu nombreuses et ne portant que peu de "groupements actifs" du type -OH ou -COOH.

— Dans les acides Humiques pyro ce sont les chaines relativement courtes riches en groupements oxycarbonés (-COOH anhydrides esters) qui doivent prendre une part importante à côté des chaines alkyliques non fonctionalisées.

- Aux macromolécules Humiques sont associées, en plus des carbohydrates des chaines paraffiniques peu ou non ramifiées des chaines de type isoprenoïde et des motifs polycycliques saturés.

La part relative prise par ces composants, et notamment par les enchainements methyleniques est nettement plus importante dans les acides Humiques NaOH que dans les homologues pyro.

Cette différence est plus marquée dans les extraits provenant de A_1 que dans ceux provenant de l'horizon de surface.

L'importance relative des motifs aliphatiques à longue chaine augmente avec le temps dans les produits humiques extraits par la soude.

Les différentes valeurs et tendances sont consignées dans le tableau.

Formes de Carbones	Acides Humiques pyro		Acides Humiques NaOH	
	A_o	A_1	A_o	A_1
CARBOHYDRATES %	< 15 %	< 10 %	≈ 20 %	< 20 %
C sp^2 %	32 à 33 %	≈ 42 %	22 à 23 %	19 à 20 %
Taux de fonctionalisation apparent	> 35 %	> 30 %	30 à 34 %	25 à 30 %
Taux de fonctionalisation oxycarboné b	> 30 %	25 à 30 %	27 à 30 %	20 à 24 %
- C=O en % de b	> 60 %	> 65 %	50 à 55 %	47 à 53 %
- COOH, - COO - aliphatiques	+ +	+ + +	+ +	+ +
- COOH, - COO - aromatiques	+ + +	+ + +	+ +	+
amides	+	+	+ + +	+ + +
esters	+ +	+ +	+	+
C sp^2 hétérosubstitués en %	19 à 23 %	≤ 17 %	> 24 %	18 à 20 %
Ar - O - R, Ar - N	++		++	
Ar - OH, Ar - O - Ar,	++		+++	
Ar-CH_3 et chaines latérales courtes non fonctionalisées	++	++	+	+
chaines latérales fonctionalisées	+ + +	+ + +	+ +	+ +
motifs paraffiniques à longue chaine	+	++	+++	++++

— Cette exemple souligne l'intérêt que peuvent présenter les méthodes d'extraction séquentielle faisant intervenir des réactifs et des pH successifs différents pour la caractérisation structurale de la fraction Humique. —

C. Fractions de l'Humine

I. Constituants extraits par l'eau à haute température et l'acide concentré chaud. Effets des traitements

Dans le cas du Podzol et de la Rendzine où les hydrolisats et résidus restant après séparation de ces derniers ont chaque fois été recueillis quantitativement, il est possible d'établir des bilans fonctionnels et de se faire une idée plus précise de l'effet des traitements mis en oeuvre.

a) Hydrolyse aqueuse à chaud

Les pourcentages de carbone et d'azote organiques extraits par l'eau à 70-75°C sont respectivement

. dans le cas du Podzol	de 4,2 à 4,5 % pour C
	de 4,3 à 4,6 % pour N
. dans le cas de la Rendzine	de 12 à 13 % pour C
	de 10 à 10,5 % pour N

Rappelons que ces deux échantillons ont été soumis préalablement à plusieurs extractions successives par le mélange pyrophosphate -NaOH (à pH 10,5) et, pour la Rendzine, à une décarbonatation préalable par HCl 1N.

Les spectres des extraits (lyophilisés) obtenus respectivement à partir de la Rendzine et du Podzol sont représentés sur la figure 31.

Ces spectres, au contraire de ceux des Humines correspondantes, ont la même allure générale.

La nature des constituants extraits à partir des deux types de sol ne doit pas différer fondamentalement.

Effets du traitement aqueux à chaud sur les différents composants et groupements carbonés

+ Carbohydrates : Les bandes les plus marquées sur le spectre des deux extraits sont celles que nous associons aux carbohydrates.

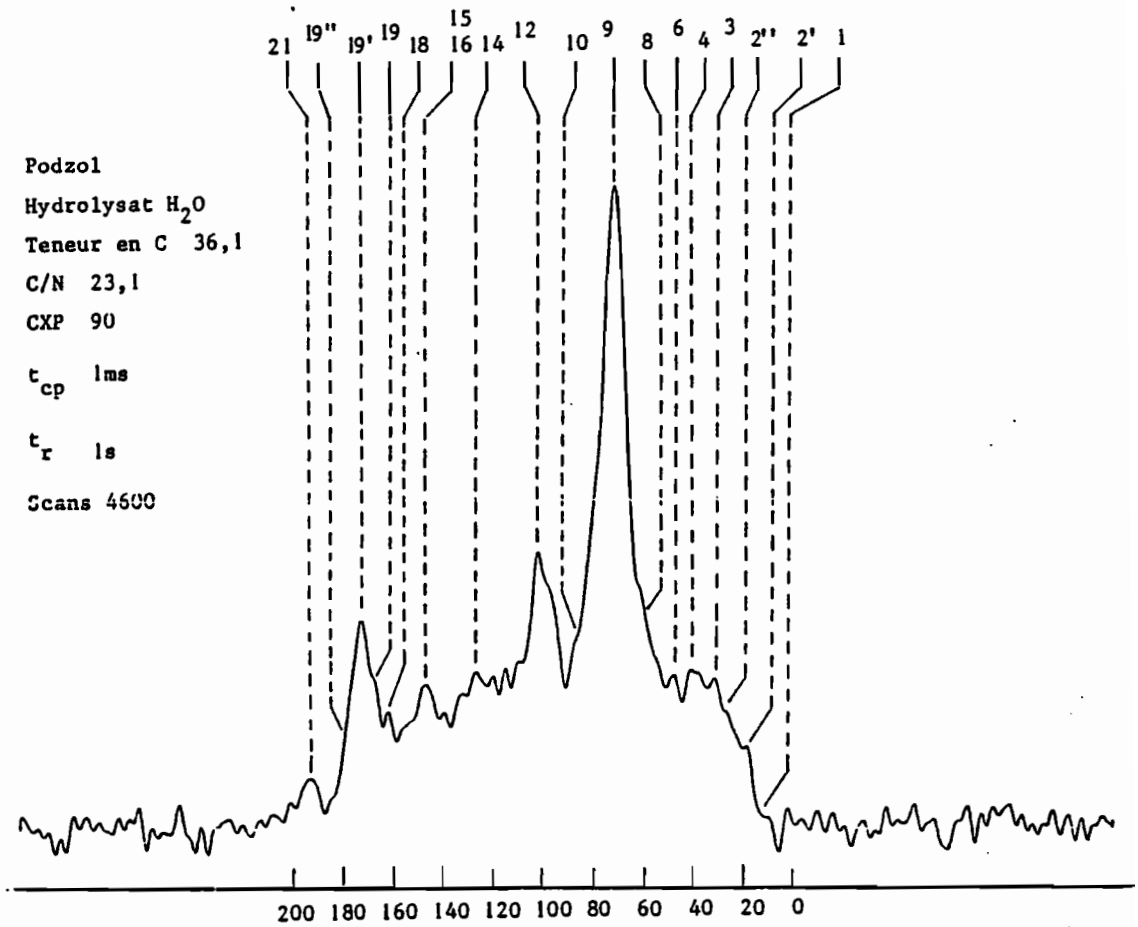
Au moins 80 à 90 % de l'aire du massif de résonances C doit ici correspondre aux signaux de groupements $-CH_2OH$, $>$ CHOH et $>$ HC-O-C de cycles glucidiques.

Le pourcentage de carbones participant de ces groupements doit se situer dans les deux extraits entre 34 et 38 %.

Nous avons estimé que les C engagés dans les carbohydrates représentaient, dans le cas du Podzol de 25 à 27 %, dans le cas de la Rendzine de 17 à 22 % du carbone organique total de l'Humine.

Sur la base de ces données on peut évaluer que l'eau à 70°C "solubilise"

- de 5 à 6 % du C des carbohydrates de l'Humine du Podzol
- dans le cas de la Rendzine cette proportion atteint au moins 24 à 26 %.


21 19" 19' 19 18 15 16 14 12 10 9 8 6 4 3 2" 2' 1
Podzol
Hydrolysat H_2O
Teneur en C 36,1
C/N 23,1
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans 4600
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

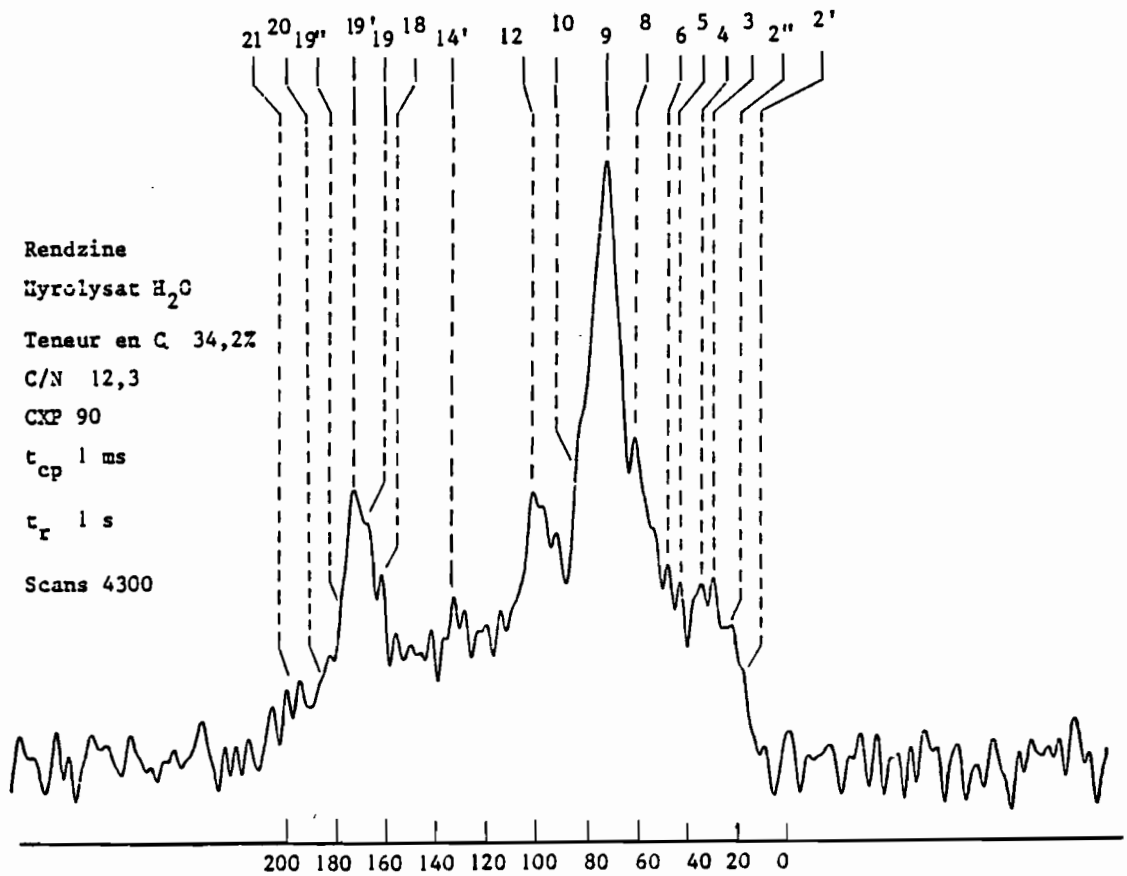

21 20 19" 19' 19 18 14' 12 10 9 8 6 5 4 3 2" 2'
Rendzine
Hyrolysat H_2O
Teneur en C 34,2%
C/N 12,3
CXP 90
t_{cp} 1 ms
t_r 1 s
Scans 4300
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 31

Remarque : Ces pourcentages ne prennent en compte que les C participant des groupements -CHOH et $-CH_2OH$ et des liaisons glycosidiques. Les unités structurales du matériau polysaccharidique extrait par l'eau peuvent être diversement substituées. Les C des groupements correspondant ont des δ qui se situent dans d'autres domaines de fréquences que ceux des -CHOH et $-CH_2OH$.

Il en résulte que dans ces extraits le pourcentage total des C participant des carbohydrates est vraisemblablement supérieur à 38 %.

. L'épaulement (-2'-) entre 20 et 24 ppm et la composante (-19'-), centrée autour de 174 ppm, sur le massif de résonance des - $C\overset{O}{<}$, doivent correspondre, pour une part importante, aux signaux des groupements acétate.

Ils sont plus marqués sur le spectre de "l'extrait Rendzine" que sur celui de "l'extrait Podzol".

Ces groupements sont associés à certains types de carbohydrates -Hémicelluloses, polysaccharides dérivant de la biomasse microbienne- qui portent également des $-OCH_3$ et des groupements -COOH (acides uroniques).

. Sur le spectre de "l'extrait Rendzine" la bande (-9-), centrée autour de 73 ppm est relativement moins marquée, par rapport aux autres composantes du massif de résonances C, entre 58 et 90 ppm, que sur le spectre de "l'extrait Podzol".

Ceci pourrait être l'indice d'une ramification plus importante des chaines glucidiques dans l'extrait provenant de l'Humine de la Rendzine.

Les ramifications ont pour effet d'augmenter la proportion relative de carbones, autres qu'anomériques, participant de liaisons glycosidiques. Ces carbones présentent des δ plus élevés que ceux des groupements >CHOH-.

- Alors que la cellulose est essentiellement constituée d'enchainements de β D glucopyranose non ramifiés liés entre eux par des ponts H, le motif structural des Hemicelluloses est en général fortement ramifié et nettement moins riche en liaisons hydrogène [77].

De même les polysaccharides dérivant de la biomasse microbienne, de nature essentiellement hétéropolymère, sont souvent fortement ramifiés et substitués, riches en acides uroniques et amino sucres [77].

Les polysaccharides ramifiés (donc relativement pauvres en liaisons H) et fortement substitués sont plus facilement "solubilisés" que le matériau cellulosique [77].

- L'eau à 70-75°C doit extraire surtout des Hémicelluloses, certains des polysaccharides d'origine microbienne et une petite proportion d'enchainements de β D glucopyranose peu "liés" provenant de la dégradation de la cellulose.

- La nature des polysaccharides présents et, surtout, l'importance relative des diverses "formes" doivent différer sensiblement dans les deux types d'Humine.

- Dans l'Humine du Podzol le matériau polysaccharidique doit être constitué, pour l'essentiel, de cellulose en partie liée à la lignine (complexes lignocellulosiques) qui la soustrait dans une certaine mesure à la biodégradation.

- Dans l'Humine de la Rendzine les Hemicelluloses et les polysaccharides d'origine microbienne doivent prendre une part relativement importante dans le schéma structural.

Ceci expliquerait que la proportion de carbohydrates extraits par l'eau à 70-75°C à partir de l'Humine de la Rendzine soit nettement plus importante que celle qui est extraite de l'Humine du Podzol, alors que cette dernière est globalement plus riche en carbohydrates.

Carbones aromatiques et oléfiniques

La proportion relative de carbones sp^2 (les carbohydrates n'étant pas pris en compte) se situe

. autour de 45 à 47 % dans l'extrait provenant de l'Humine du Podzol

. autour de 23 à 24 % dans l'extrait provenant de l'Humine de la Rendzine.

Dans ce dernier il est du même ordre que dans l'Humine, alors que dans le cas du Podzol l'extrait aqueux est relativement plus riche en carbones insaturés que l'Humine dont il dérive.

Deux hypothèses peuvent être envisagées

1. Des produits aromatiques sont générés lors de l'extraction

Divers auteurs [78,79,80] laissent entendre que l'action de l'eau à haute température peut provoquer une certaine dégradation des carbohydrates du sol. Des oligomères glucidiques et peptidiques et même des oses et acides aminés seraient ainsi amenés en "solution".

On sait que ces constituants interagissent, même en milieu faiblement acide, pour donner des cycles oxygénés du type furfuraldéhyde qui se polymérisent ensuite rapidement pour former des composés noirs insolubles (mélanoïdes) [81].

Des composés phénoliques peuvent également se former à partir de certains hexoses en milieu aqueux (pH voisin de 4 à 4,5) à température élevée [82].

Il pourrait donc y avoir néoformation d'unités structurales aromatiques en cours d'extraction et l'augmentation relative du taux de carbones sp^2 dans l'extrait serait surtout le fait de réactions secondaires.

— Si effectivement il y avait "aromatisation" on ne voit pas pourquoi ce processus n'interviendrait pas également dans le cas de la Rendzine où les quantités de carbohydrates et de constituants azotés qui passent en solution sont beaucoup plus importantes.

L'extraction dure globalement une douzaine d'heures. Après séparation par centrifugation à grande vitesse les extraits sont immédiatement filtrés puis lyophilisés.

Les quantités de matériau aromatique néoformé pendant la quinzaine d'heures, au total, qui s'écoule entre le début de l'extraction et la lyophilisation ne doivent pas être très importantes.

A l'appui de cette hypothèse, nous pouvons faire état de l'observation suivante :

- Dans le cas du Podzol une fraction de l'extrait n'a pas été lyophilisé immédiatement mais conservé pendant plusieurs jours au réfrigérateur puis concentré par évaporation sous vide (40°C) avant lyophilisation.

L'échantillon ainsi obtenu est nettement plus riche en unités structurales aromatiques que celui qu'on obtient dans le cadre du protocole expérimental normalisé comme le montre la comparaison des spectres IR correspondants (voir figure 32).

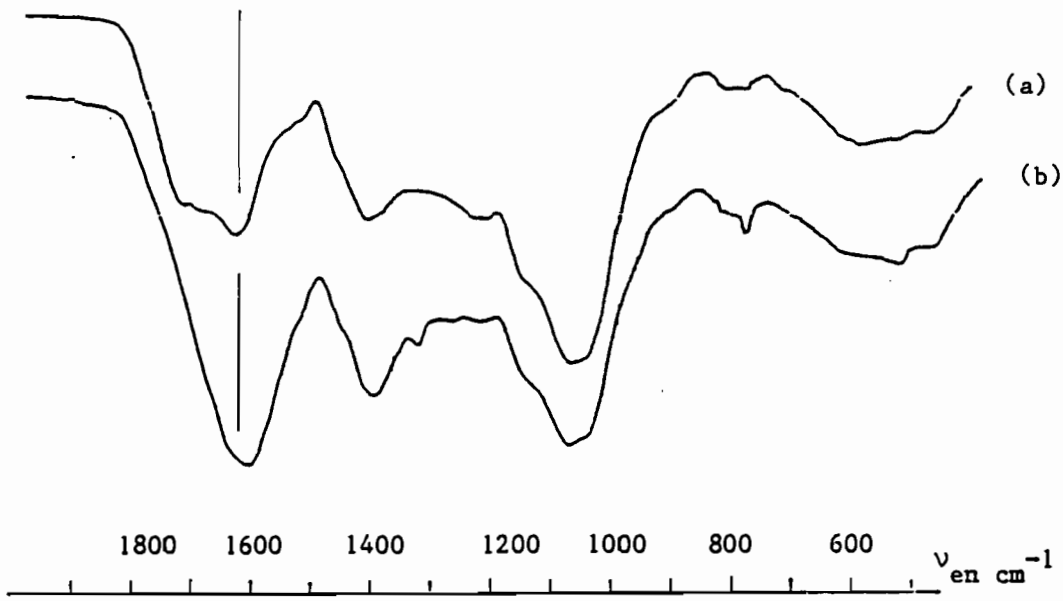


Figure 32 : (a) extrait obtenu dans le cadre du protocole normalisé
(b) extrait conservé au contact de l'air et concentré avant lyophilisation

2. L'enrichissement doit être essentiellement relatif

L'eau n'extrait que des constituants aromatiques et oléfiniques peu condensés, éventuellement associés aux polysaccharide mais qui ne doivent être que faiblement liés aux composants macromoléculaires insolubles : composés phénoliques provenant de la dégradation biochimique de la lignine, composés aromatiques non apparentés à la lignine (lignanes, tannins glycosidiques hydrolysables), flavonoïdes, composés terpéniques aisément dégradables (caroténoïdes...).

Ces constituants ne doivent représenter qu'une faible fraction du matériau aromatique et oléfinique de l'Humine. Une grande partie des constituants simples ayant été extraits par le mélange pyrophosphate-Na lors de la séparation préalable des constituants humiques "solubles" (Acides Humiques et Fubriques).

— Nous avons vu que dans l'Humine du Podzol une proportion notable des carbones sp^3 participent de groupements alkyle à longue chaine, peu fonctionalisés.

Ces composants ne sont pratiquement pas "solubilisés" -seulement à 1,5 % des carbones sp^3 contribuant au massif A et moins de 4 % des Csp^3 contribuant au massif B sont extrait contre 5 à 6 % des carbones sp^2- Il en résulte un enrichissement relatif de l'extrait en Csp^2 aromatiques et oléfiniques, par rapport à l'Humine dont il dérive.

Dans le cas de la Rendzine le pourcentage de carbones sp^2 extraits n'est que de 50 à 60 % plus élevé que dans le cas du Podzol alors que 3 à 5 fois plus de carbones aliphatiques passent en solution (4 à 5 fois plus en ce qui concerne les Csp^3 contribuant au massif A, de 3 à 4 fois plus en ce qui concerne les Csp^3 contribuant au massif B).

Carbones hétérosubstitués

Le taux de fonctionalisation apparent se situe

. entre 37 et 40 % dans l'extrait provenant de l'Humine du Podzol,

. entre 39 et 42 % dans l'extrait provenant de l'Humine de la Rendzine.

Si on tient compte du fait que ce dernier est plus riche en groupements azotés (le rapport C/N est ici de 12,3 contre 23,1 dans "l'extrait Podzol") le taux de fonctionalisation effectif doit être significativement plus élevé dans "l'extrait Rendzine" que dans "l'extrait Podzol".

Groupements oxycarbonés

Dans la mesure où on admet que l'interaction entre les unités structurales aromatiques et les acides aminés ou composés peptidiques qui passent en solution reste relativement limitée, la fraction d'aire du domaine E qui correspond au Csp^2 participant de liaisons C-N devrait être du même ordre, voire plus faible que dans l'Humine correspondante ("l'azote hétérocyclique ainsi que les N participant de pontages C-N entre unités structurales du "nucleus" n'étant pratiquement pas solubilisés).

Le taux de fonctionalisation oxycarboné des constituants ou composants qu'on retrouve dans l'extrait, les CHOH, CH_2OH, CH-O-C et carbones anomériques des carbohydrates n'étant pas pris en compte, devrait se situer

. entre 38 et 41 % dans l'extrait provenant de l'Humine du Podzol

. entre 45 et 47 % dans l'extrait provenant de l'Humine de la Rendzine.

- Dans les deux cas il est significativement plus évelé que dans l'Humine.

Deux hypothèses peuvent être envisagées

- Une oxydation notable intervient lors de l'extraction

- L'eau solubilise préférentiellement des constituants ou composants fortement fonctionalisés. L'augmentation est en fait relative.

- Nous opérons sous atmosphère d'azote et les extraits sont lyophilisés immédiatement après centrifugation et filtration.

Dans le résidu le taux de fonctionalisation oxycarboné moyen est du même ordre que dans l'Humine de départ -25 à 30 %-. Il devrait être également plus élevé s'il y avait eu oxydation notable.

- C'est donc la seconde hypothèse qui doit être retenue. L'enrichissement relatif des extraits en groupements oxycarbonés doit résulter surtout de ce que :

. d'une part les constituants ou composants aliphatiques à longue chaine, peu fonctionalisés ne passent pas en solution,

. d'autre part, les polysaccharides extraits comportent une proportion notable de groupements oxycarbonés qui résonnent dans d'autres plages de fréquences que celle du domaine C -groupements acétate, méthyl esters, -COOH- et qui sont donc pris en compte dans l'évaluation du taux de fonctionalisation apparent.

Dans le cas de la Rendzine les groupements acétate et -COOH associés aux polysaccharides prennent une part déterminante dans le taux de fonctionalisation.

+ <u>La distribution des divers types de groupements oxycarbonés diffère sensiblement de celle qu'on a dans l'Humine.</u>

- Les $-C\lessgtr^{O}$ participant de groupements carboxyles et amide prennent ici une part nettement plus importante dans le schéma fonctionnel, que dans cette dernière

. dans l'extrait provenant du Podzol elle se situe entre 50 et 55 % (contre 28 à 34 % dans l'Humine)

. dans l'extrait provenant de la Rendzine elle se situe entre 62 et 64 % (contre 45 à 47 % dans l'Humine).

- Sur les spectres des deux extraits les signaux les plus marqués du domaine F se situent dans la bande $170 < \delta < 176$ ppm. Ils contribuent à la composante (-19'-) centrée autour de 174 ppm.

Ces signaux doivent correspondre pour une bonne part à des -COOH associés aux unités structurales aromatiques.

Le groupe de signaux de la bande $166 < \delta < 171$ ppm -qui contribuent à l'épaulement (-19-) peut être associé à des groupements amide et esters aliphatiques.

La contribution des groupements amide doit être relativement réduite ici. Les extraits ne sont pas plus riches en groupements azotés que l'Humine de départ. (Dans le cas du Podzol les C/N de l'extrait et de l'Humine sont du même ordre, dans la Rendzine le C/N de l'extrait est même légèrement supérieur à celui de l'Humine).

Les signaux les plus intenses de cette bande de δ correspond ici aux $-C\lessgtr^{O}$ participant de groupements esters, groupements acetate des polysaccharides notamment.

La teneur de ces derniers doit être sensiblement plus importante dans l'extrait provenant de l'Humine de la Rendzine que dans celui provenant de l'Humine du Podzol.

L'épaulement (-19-), ainsi que l'épaulement (-2'-), entre 20 et 25 ppm (que nous associons aux signaux des $-CH_3$ de ces groupements) sont nettement plus marqués sur le spectre du premier.

Sur le spectre de l'extrait provenant du Podzol le groupe de signaux de la bande 175 < δ < 185 ppm -qui contribuent à l'épaulement (-19"-)- et que nous attribuons aux -COOH associés aux composants aliphatiques prend nettement plus d'importance relative que sur le spectre de l'Humine.

Il est également bien marqué sur celui de l'extrait provenant de la Rendzine.

Il doit s'agir, pour une bonne partie, de -COOH des acides uroniques.

Dans l'extrait de la Rendzine on trouve une proportion importante de $\gtrless$ C = O quinoniques et de groupements aldehyde.

Dans l'extrait du Podzol les $\gtrless$ C = O ne prennent qu'une part très réduite, la contribution des groupements aldehyde est plus marquée mais n'atteint pas l'importance qu'elle a dans l'extrait provenant de la Rendzine.

- La composition fonctionnelle du matériau aromatique qu'on retrouve dans l'extrait aqueux diffère significativement de celle de la fraction aromatique de l'Humine, ou, plus exacatement de celle des composants qui la déterminent c'est-à-dire qui prennent une part prépondérante dans sa structure (lignines, constituants Humiques notamment).

L'eau extrait des composants qui ne doivent contribuer que dans une mesure relativement réduite à cette dernière.

- Les unités structurales de ce matériau sont dans l'ensemble fortement substituées.

- Elles comportent une proportion élevée de groupements $\gtrless$ C-OH et $\gtrless$ C-COOR ($\gtrless$ C-$COOCH_3$ notamment).

Ces groupements prennent une part particulièrement marqué dans le schéma fonctionnel des composants aromatiques qu'on retrouve dans l'extrait provenant de l'Humine de la Rendzine.

- Le taux d'hétérosubstitution des carbones sp^2 se situe entre 28 et 32 % dans l'extrait provenant de l'Humine de la Rendzine (moins de 2C par cycle, en moyenne, doivent porter un groupement hétéroatomique, autre que carboxyle) entre 34 et 38 % dans l'extrait provenant de l'Humine du Podzol (la proportion moyenne des C portant un groupement hétéroatomique, autre que carboxyle, se situe ici entre 2 et 2,4 par cycle).

. Sur le spectre de la première aucun des différents groupes de signaux qui contribuent au massif E ne prend statistiquement une importance particulière.

. Sur le spectre du second le groupe de signaux de la bande 145 < δ < 155 ppm est relativement plus marqué.

Ces signaux doivent correspondre, pour l'essentiel, à des $\gtrless$ C-OH en ortho et para d'un C protoné ou alkyle substitué (ou portant un -COOH) ou en meta et para d'un C hétérosubstitué (les motifs O-dihydroxylés ne semblent pas prendre une importance particulière dans ce matériau).

Les composants aromatiques qui sont extraits de l'Humine du Podzol comportent une proportion relativement plus élevée de groupements -OH phénoliques que ceux

qui sont extraits de l'Humine de la Rendzine.

Dans ces derniers c'est les groupements aryl-methoxyl qui prennent une part plus marquée dans le schéma fonctionnel.

Sur le spectre de l'extrait du Podzol les signaux de la bande $55 < \delta < 58$ ppm ne se démarquent pratiquement pas de l'épaulement (-8-), entre 58 et 65 ppm (que nous associons aux signaux des $-CH_2OH$ et $> CH-OCH_3$ des polysaccharides).

Sur le spectre de la Rendzine ils sont nettement plus marqués.

- On retiendra essentiellement que les unités structurales aromatiques qu'on retrouve dans l'extrait présentent une grande diversité de configuration. Aucune ne prenant statistiquement une importance particulière.

Le matériau aromatique qui passe en solution est constitué de composants et motifs structuraux de caractéristiques très variées qui doivent une grande partie être liés aux polysaccharides, comme nous l'avons souligné plus haut (acides phénols des cellules stabilisées par les carbohydrates, gallo ou ellagi tannins...).

Il ne semble pas que l'eau ait extrait sélectivement des entités aromatiques de composition et structure définies.

Composantes aliphatiques

Nous avons déjà souligné que l'extrait aqueux est moins riche en groupements aliphatiques saturés que l'Humine correspondante surtout dans le cas du Podzol.

Le pourcentage de carbones sp^3 protonés se situe

. entre 23 et 25 % dans l'extrait Rendzine (alors qu'il est de 31 à 33 % dans l'Humine)

. entre 15 et 16 % dans l'extrait Podzol (alors qu'il est de 34 à 36 % dans l'Humine).

- Les motifs structuraux aliphatiques qu'on retrouve dans l'extrait diffèrent de ceux qui prédominent dans l'Humine, surtout dans le cas du Podzol.

- Sur les deux spectres les signaux qui apparaissent entre 15 et 28 ppm contribuent pour plus du 1/3 à l'aire totale du massif de résonances A. Ils correspondent pour l'essentiel

. aux CH_3COO- des polysaccharides et à des $-CH_3$ liés aux unités structurales aromatiques (épaulement -2'-)

. aux CH_2 et $-CH(CH_3)_2$ des chaines latérales courtes du type propyle ou isobutyle (épaulement -2"-).

- La contribution relative des $-CH_3$ terminaux participant de chaines alkyles comportant plus de 4 C et des $-CH_3$ iso de groupements $-\overset{|}{C}H-$ (chaines isoprenoïdes), entre 15 et 20 ppm, est beaucoup moins marquée que sur le spectre de l'Humine, surtout dans le cas du Podzol.

- La part prise par la composante que nous associons aux enchainements méthyléniques (maximum -3-) est très réduite.

Elle est du même ordre que celle de l'épaulement (-4-) qui correspond aux CH_2 en α

ou β d'un noyau armatique ou en α d'un groupement -COOH ou -COO-R (R groupement alkyle autre que $-CH_3$ et aux $>CH-NH_2$ des aminosucres.

Les composantes structurales aliphatiques qui se retrouvent dans l'extrait aqueux sont donc pour l'essentiel des motifs à chaine courte, fortement fonctionalisés (en particulier par des groupements -COOH ou ester méthylique), liés aux unités structurales aromatiques et aux polysaccharides et qui sont extraits avec ces derniers.

Les constituants aliphatiques de faible poids moléculaire (acides organiques, acides aminés) provenant de la biodégradation du matériau végétal ayant vraisemblablement été extraits pour l'essentiel par le mélange pyrophosphate-soude.

Les chaines paraffiniques et isoprenoïdes, les cycles et unités polycycliques à nombre de C élevé, peu fonctionalisés, ne sont pratiquement pas altérés et ne passent pas en solution.

b) Hydrolyse acide à chaud

Les pourcentages de carbone et d'azote organique extraits par HCl 6N à 70°C à partir du résidu restant après le traitement aqueux sont respectivement dans

le cas du Podzol	de 32 à 33 % pour C
	de 60 à 61 % pour N
dans le cas de la Rendzine	de 48 à 49 % pour C
	de 67 à 68 % pour N

Les pourcentages globaux de C et N extraits de l'Humine par l'ensemble des traitements hydrolytiques sont

dans le cas du Podzol	de 35 à 36 % pour C
	de 62 à 63 % pour N
dans le cas de la Rendzine	de 54 à 55 % pour C
	de 70 à 71 % pour N.

Les spectres des résidus restant respectivement après hydrolyse aqueuse et hydrolyse acide de l'Humine du Podzol sont donnés sur la figure 33.

Dans le cas de la Rendzine le spectre restant après hydrolyse aqueuse n'a pu être relevé. Le spectre du résidu d'hydrolyse acide est représenté sur la figure 34.

Remarque : Dans le Podzol comme dans la Rendzine la fraction inorganique de l'Humine est constitué pour 80 à 90 % de quartz. La contribution des sesquihydroxydes est très faible dans les deux cas -la teneur en Fe total est inférieure à 3 % dans la Rendzine, à 1 % dans le Podzol-

Effet de l'acide concentré chaud sur les différents composants et types de carbones

- Carbohydrates

+ Dans le cas du Podzol : Trois attaques successives de 7 heures chacune n'ont pas permis "d'extraire" la totalité des carbohydrates de l'Humine.

Nous estimons que les signaux correspondant aux C_2 à $_6$ des cycles glucopyranoses contribuent encore pour 40 à 50 % à l'aire du massif de résonances C sur le spectre du résidu.

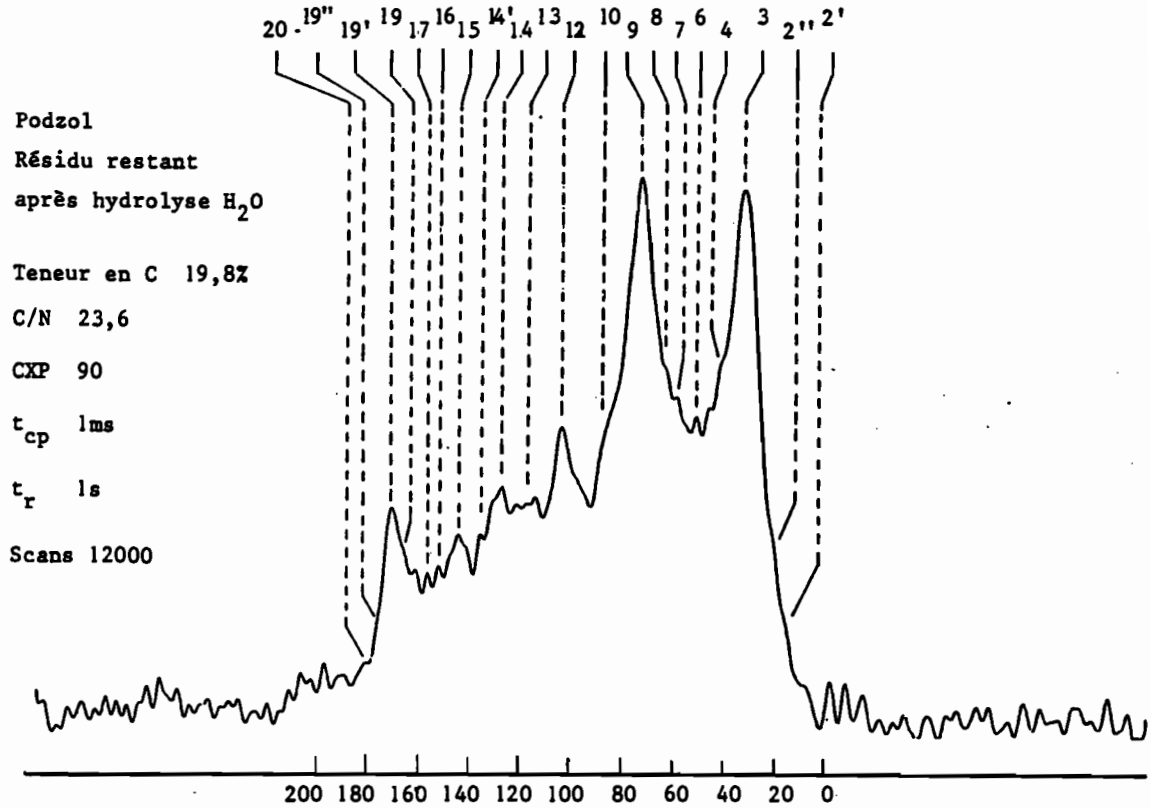
La proportion de carbones participant des carbohydrates devrait se situer ici entre 8 et 12 %.

- Dans cette hypothèse

. l'hydrolyse acide a solubilisé de 70 à 72 % des carbohydrates du résidu restant après traitement à l'eau chaude

. les deux séries de traitements (H_2O et HCl) ont "extrait" globalement de 72 à 75 % des carbones participant des carbohydrates.

- La bande (-9-) est ici bien définie et nettement moins large que sur le spectre de l'Humine.


20 19" 19' 19 17 16 15 14' 14 13 12 10 9 8 7 6 4 3 2'' 2'
Podzol
Résidu restant
après hydrolyse H_2O
Teneur en C 19,8%
C/N 23,6
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans 12000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

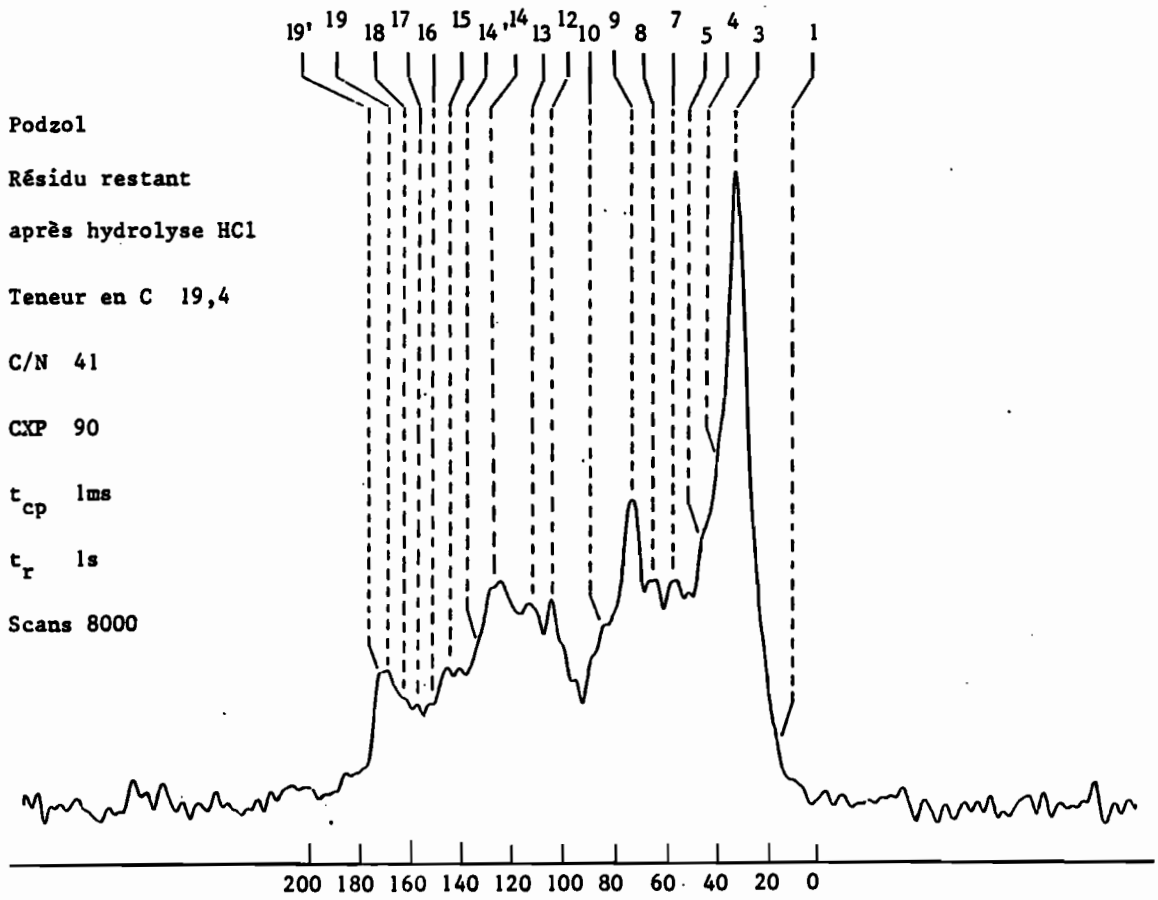

19' 19 18 17 16 15 14' 14 13 12 10 9 8 7 5 4 3 1
Podzol
Résidu restant
après hydrolyse HCl
Teneur en C 19,4
C/N 41
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans 8000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 33

⟶ Le matériau polysaccharidique qui reste après hydrolyse acide doit être consitué pour l'essentiel de cellulose bien "structurée" (microfibrilles) n'ayant pas encore subi de dégradation notable : "cellulose héritée"

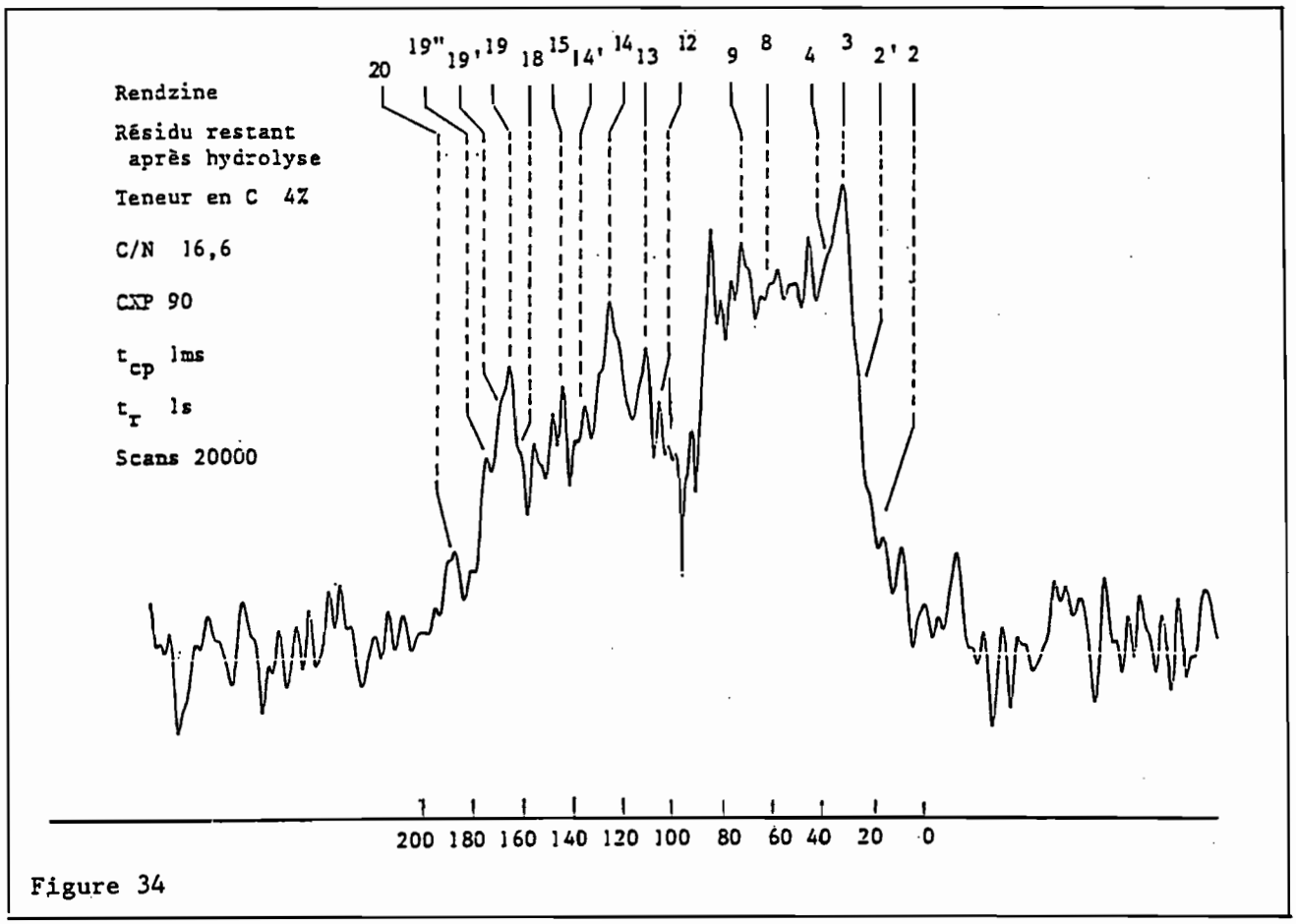


Figure 34

+ <u>Dans le cas de la Rendzine</u> : La bande (-9-) se différentie à peine des autres composantes du massif de résonances C.

- En termes d'équivallents glucose, moins de 50 % de l'aire de ce massif devrait correspondre aux signaux de carbones ($C_{2\ à\ 6}$) participant de motifs glucopyranose.

<u>La proportion de carbones relevant des carbohydrates ne devrait pas dépasser 6 à 8 %.</u>

Dans cette hypothèse

. l'hydrolyse acide aurait extrait entre 55 et 60 % du carbone des carbohydrates qui n'ont pas été solubilisés par l'eau à 70-75°C.

. l'ensemble des traitements (H_2O + HCl) aurait permis d'extraire de l'ordre de 70 à 75 % du carbone des carbohydrates de l'Humine.

- En fait, comme nous l'avons souligné plus haut, dans la Rendzine la fraction polysaccharidique présente une grande diversité structurale.

La démarche analytique qui consiste à l'assimiler à un ensemble d'enchaînements glucopyranose ne donne pas la vraie mesure de la part que doivent prendre les signaux des carbones correspondants au niveau du massif C.

Les teneurs en carbohydrates que nous évaluons, sur cette base, à partir du spectre RMN, sont ici affectées d'une marge d'incertitude élevée, d'autant plus que, la teneur en carbone dans le résidu ne dépassant pas 4 %, le rapport signal/bruit de ce spectre est très mauvais.

Les valeurs précédentes ont essentiellement un caractère indicatif.

- Sur le spectre du résidu les signaux de la bande $80 < \delta < 90$ ppm sont presque aussi marqués que ceux de la bande $70 < \delta < 80$ ppm.

Ces signaux peuvent être attribués aux C de groupements méthine participant de liaisons $>$CH-O-R : ethers cycliques (du motif structural de la lignine et des motifs flavonoïdes), liaisons glycosidiques.

La part prise par ces dernières doit être relativement importante dans le schéma structural de la fraction polysaccharidique de ce sol.

L'empreinte des carbones anomériques (épaulement -12- entre 100 et 106 ppm) est nettement moins marquée sur le spectre de cette fraction que sur celui du résidu d'hydrolyse du Podzol.

Par contre, les signaux de la bande $90 < \delta < 100$ ppm, qui peuvent être associés, entre autres, à des carbones de type hémiacétals, prennent plus d'importance relative que sur ce dernier.

— Nous en concluons que la fraction polysaccharidique doit être constituée, ici, pour une part importante, de chaines hétérosidiques relativement courtes, fortement ramifiées, liées à d'autres composantes structurales [-motifs aliphatiques hydroxylés (alcools ou acides gras ramifiés linéaires et (ou) cycliques), chaines peptidiques-] par l'intermédiaire de ponts glycosidiques : glycolipides et glycoprotéines [77], partiellement hydrolysés, dérivant de la biomasse microbienne. —

—> De l'analyse comparative des spectres des différentes fractions obtenues à partir de l'Humine de ces deux types de sols il ressort essentiellement que :

— . la composition chimique et structurale du matériau polysaccharidique diffère notablement dans le Podzol et la Rendzine

— . Dans les deux cas les traitements mis en oeuvre n'ont pas permis d'extraire la totalité des carbohydrates de l'Humine.

— . Si, en première analyse, les proportions de carbohydrates (en pourcentage du C total) extraites par l'ensemble des traitements (aqueux et acides) ne semblent pas différer fondamentalement dans les deux cas, bien que leurs teneurs dans l'Humine ne soient pas les mêmes, l'Humine de la Rendzine comporte une proportion nettement plus élevée de carbohydrates "hydrosolubles" que celle du Podzol.

Par contre, la fraction des polysaccharides qui ne sont pas "solubilisée" par l'eau à 70-75°C **résistent** apparemment mieux à l'hydrolyse acide que dans le Podzol.

Ceci **tend** à conforter l'hypothèse selon laquelle, dans l'Humine de la Rendzine une fraction **notable** des carbohydrates doivent participer de complexes macromoléculaires qui résistent mieux à la biodégradation que la cellulose (-Humine microbienne-), alors que dans le Podzol où l'activité biologique est relativement limitée c'est la "cellulose héritée" qui prédomine.

+ Constituants azotés

HCl à chaud hydrolyse les liaisons peptidiques. Les acides aminés libérés passent en solution.

+ Dans le cas du Podzol : Les trois attaques acides successives ont extrait la plus grande partie de l'azote peptidique et des aminoacides de l'Humine.

De 63 à 65 % de l'azote qu'on retrouve dans l'hydrolysat est de type α aminé, 10 % est de type ammoniacal.

Le rapport C/N (molaire) du résidu est de 47,8 ce qui signifie qu'on y trouve en moyenne 2 atomes d'azote pour 100 atomes de C.

—— Le pourcentage des carbones directement liés à un atome d'azote devrait donc se situer entre 3 et 5 % (la part prise par les groupements azotés oxygénés devant être relativement négligeable).

Sur le spectre du résidu d'hydrolyse les signaux les plus marqués du domaine E se situent dans la bande 140 < δ <148 ppm. Les Csp^2 participant de liaisons C-N résonnent, pour l'essentiel, dans cette bande de fréquences.

Même en admettant qu'ils contribuent pour au moins 25 à 30 % à l'aire du massif E, les Csp^2 portant un atome d'azote ne devraient pas représenter plus de 2 % du C total du résidu.

N B : Les liaisons C(Ar)-N sont, dans l'ensemble, peu affectées par le traitement acide [83].

La proportion de carbones participant de groupements azotés aromatiques -hétérocycles azotés, ponts C(Ar)=N-C(Ar) et C(Ar)-NH-C(Ar), groupements phénylamine et phénylaminoacides du nucleus- ne devrait pas dépasser 1 % du C total dans l'Humine de ce sol.

⟶ Dans le résidu d'hydrolyse, les Csp^3 participant de liaisons C-N, liaisons peptidiques pour l'essentiel, doivent encore représenter de l'ordre de 2 à 3 % du C total. (Ces carbones contribuent pour moitié au massif β et pour moitié au massif F).

+ Dans le cas de la Rendzine : De 61 à 65 % de l'azote extrait par HCl est de type α aminé.

L'azote ammoniacal représente ici de l'ordre de 26 % de l'azote total de l'hydrolysat.

Il provient vraisemblablement, en grande partie, de la désamination des aminosucres -Le pic (-4-), centré autour de 43 ppm, que nous associons aux $-CHNH_2$ et $>CHNH_2$ des aminosucres, bien marqué sur le spectre de l'Humine, a pratiquement disparu sur celui du résidu.

La teneur en N dans le résidu est nettement plus élevée que dans celui du Podzol bien que le pourcentage total d'azote solubilisé soit ici légèrement plus élevé.

Le rapport C/N est encore de 19,4 ce qui signifie qu'on trouve en moyenne 5 atomes d'azote pour 100 atomes de carbones.

La proportion de Csp^2 participant de liaisons C(Ar)-N ne doit pas dépasser 3 % (du C total du résidu) si on admet que le pourcentage d'aire du domaine E correspondant aux signaux de ces carbones se situe entre 25 et 50 %.

⟶ On en déduit que les carbones sp^3 participant de groupements azotés -groupements amides pour l'essentiel- doivent représenter encore de l'ordre de 8 à 10 % du C organique total du résidu.

Entre 35 et 40 % de l'aire du massif B devrait correspondre aux signaux de Csp^3 portant un atome d'azote.

Remarque : On peut se demander si les motifs peptidiques qui ne sont pas "hydrolysés" et se retrouvent dans le résidu participent de constituants moins hydrolysables (protéines fibreuses) ou qui sont soustraits physiquement à l'attaque acide (dans la mesure où ils peuvent être séquestrés au sein d'un "réseau" de composants structuraux peu fonctionalisés, donc hydrophobes) ou si simplement le traitement n'a pas été suffisamment prolongé et, surtout, suffisamment renouvelé. En d'autres termes si dans le cas d'échantillons riches en N il ne faudrait pas deux à trois attaques supplémentaires (Les traitements hydrolytiques qui ont été mis en oeuvre par ailleurs [15,25,83] font intervenir des températures plus élevées -hydrolyse à reflux- et des rapports échantillon/réactif nettement plus faibles).

Ce point devra être précisé ultérieurement.

- Groupements oxycarbonés

+ Dans le Podzol : Le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné se situe respectivement

. entre 23 et 26 % dans le résidu restant après traitement aqueux

Il est ici du même ordre que dans l'Humine.

. entre 21 et 24 % dans le résidu d'hydrolyse acide

Il est inférieur à celui de l'Humine.

—— En première analyse, le traitement acide mis en oeuvre ne semble cependant pas avoir affecté, dans une mesure très importante, les liaisons C-O, autres que glycosidiques et amide.

Le pourcentage global des carbones participant de groupements oxycarbonés (autres que les $-CH_2OH$, $>CH-OH$ et $>CH-O-C$ des carbohydrates) n'a diminué que de 2 à 4 % dans le résidu, par rapport à l'Humine.

Cette diminution doit résulter, pour une part appréciable, de l'hydrolyse des chaines peptidiques.

- Dans le résidu restant après traitement aqueux près de 35 % des "carbones oxygénés" participent de groupements carboxyles et amide. Cette proportion est du même ordre que dans l'Humine.

Dans le résidu d'hydrolyse acide elle n'est plus que de 24 à 28 %.

Les signaux correspondant aux groupements amide aliphatiques étant très réduits sur le spectre de ce dernier, la plus grande partie des signaux de la bande $166 < \delta < 170$ ppm qui contribuent au maximu (-19-) doivent correspondre aux $-C\begin{smallmatrix}\nearrow O\\ \searrow O-\end{smallmatrix}$ de groupements esters aliphatiques.

Il ne semble pas que ces groupements aient été hydrolysés dans une proportion notable. Si tel était le cas les signaux de la bande $175 < \delta < 185$ ppm, que nous associons aux -COOH aliphatiques, devraient être relativement plus marqués que ceux du domaine $166 < \delta < 172$ ppm sur le spectre du résidu. Le maximum (-19'-) devrait être décalé sensiblement dans le sens des δ croissants.

On n'observe rien de tel ici.

- Les signaux de la bande $170 < \delta < 176$ ppm que nous associons en grande partie aux -COOH portés par des noyaux aromatiques sont moins marqués, relativement à ceux de la bande $166 < \delta < 170$ ppm, et relativement à ceux qui contribuent au massif D entre 110 et 140 ppm, sur le spectre du résidu que sur celui de l'Humine.

Les groupements $\gtrless$ C-COOH doivent prendre, en moyenne, une part plus réduite dans le schéma fonctionnel de la fraction aromatique du résidu que dans l'Humine.

$\longrightarrow$ L'acide a dû "extraire" surtout des composants structuraux comportant une forte proportion de ces groupements.

- La proportion de carbones sp^2 hétérosubstitués passe de 27 à 29 %, dans le résidu restant après traitement aqueux, à 20 à 23 % après hydrolyse acide.

L'ensemble des composantes contribuant au massif E voient leur importance relative réduite (par rapport aux signaux contribuant au massif D).

$\longrightarrow$ Les unités structurales aromatiques qu'on retrouve dans le résidu sont, en moyenne, moins riches en groupements -OH phénoliques, $-OCH_3$ et ether que dans l'Humine.

. Les Hydracides même concentrés sont sans action sur les groupements phénols. Par contre, ils sont susceptibles de couper les liaisons ether, et notamment les liaisons $\gtrless$C-O-CH$<$ de la lignine [84, 121].

Le traitement acide mis en oeuvre a dû provoquer une certaine acidolyse de la "lignine héritée".

- Une hydrolyse partielle des liaisons esters "périphériques qui contribuent à la fixation de polyphénols et acides phénols peu condensés en surface des macromolécules humiques [83] a également pû intervenir.

Les unités structurales participant des motifs polyaromatiques du "nucleus" doivent être globalement moins fonctionalisées que celles de la lignine héritée. et que les polyphénols et acides phénols "périphériques". Ces dernières passant, en partie dans l'hydrolysat, le taux d'(hétéro)substitution moyen des composants aromatiques est plus faible dans le résidu que dans l'Humine de départ.

+ Dans le cas de la Rendzine : Les pourcentages de carbones participant de groupements oxycarbonés, autres que les $-CH_2OH$, $>CH-OH$ et $>CH-O-C$ (participant du cycle des oses) se situent

. entre 25 et 29 % dans le résidu d'hydrolyse acide

. entre 33 et 36 % dans l'Humine de départ.

Le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné a diminué après hydrolyse

La diminution est ici plus marquée que dans le cas du Podzol (5 à 10 % contre 2 à 4 %).

- La distribution des différents types de groupements oxycarbonés diffère quelque peu de celle qu'on a dans l'Humine.

- La proportion de $-C\overset{O}{<}$ se situe, dans le résidu entre 50 et 55 % (Elle est de 45 à 50 % dans l'Humine).

Contrairement à ce qu'on observait dans le cas du Podzol, la part que prennent ces types de carbones dans le schéma fonctionnel n'a pas diminué globalement après hydrolyse.

Mais alors que sur le spectre de l'Humine les différentes composantes contribuant au massif F avaient en gros, la même importance relative, sur le spectre du résidu, le groupe de signaux de la bande $165 < \delta < 175$ ppm (qui contribuent au maximum (-19-) et à l'épaulement (-19'-) est nettement plus marqué.

La part relative que prennent les $\geqslant C(Ar)-COOH$ et les **groupements** esters aliphatiques dans le schéma fonctionnel doit être sensiblement plus importante dans le résidu que dans l'Humine.

- Les signaux de la bande $175 < \delta < 185$ ppm (épaulement -19"-) et de la bande $160 < \delta < 166$ ppm (épaulement -18-) que nous attribuons respectivement aux -COOH aliphatiques et aux groupements esters et amides aromatiques sont moins marqués que sur le spectre de l'Humine.

"-L'effacement" relatif de la composante (-19"-) doit être lié éventuellement à l'hydrolyse du polyronides celui de l'épaulement (-18-) à l'hydrolyse des polypeptides.

- La proportion moyenne de carbones sp^2 hétérosubstitués passe de 27 % et plus dans l'Humine à 24 % dans le résidu.

Les spectres du résidu et de l'Humine diffèrent notablement dans le domaine des Csp^2. La bande (-16-) qui se détache nettement du massif de résonance basal E, entre 148 et 156 ppm sur le spectre de l'Humine et que nous avons attribué, aux signaux des $\geqslant C(Ar)-OH$ et $\geqslant C(Ar)-OCH_3$ de la "lignine héritée", ne s'en différentie plus que faiblement sur le spectre du résidu. Par contre, les signaux de la bande $135 < \delta < 145$ ppm sont relativement plus marqués sur ce dernier.

Ici encore la lignine héritée a du subir une acidolyse partielle. Des motifs aromatiques fortement substitués (motifs syringyle) ont passé dans l'hydrolysat.

Ce qui pouvait expliquer que le degré moyen de fonctionalisation de la fraction aromatique est plus faible dans le résidu que dans l'Humine de départ.

Nous montrerons plus loin que dans ce sol près de 40 % des carbonés sp^2 du résidu participent de l'Humine de précipitation (contre 12 % seulement dans le cas du Podzol).

Dans cette dernière la proportion moyenne des Csp^2 portant un groupement hétéroatomique (autre que -COOH (ou R)) ne dépasse pas 23 %.

L'allure générale que présente le spectre du résidu, dans les domaines D et E, se rapproche ici d'avantage de celle du spectre de l'Humine de précipitation que de celle du spectre de l'Humine de départ.

La part relative que prennent les motifs de la lignine héritée dans le schéma structural du résidu d'hydrolyse doit être moins importante dans le cas de la Rendzine que dans celui du Podzol.

Dans le cas de la Rendzine le traitement acide a du affecter notablement la lignine héritée.

Il n'est pratiquement pas possible ici d'apprécier dans quelle mesure il a pu affecter les liaisons ether des composants aliphatiques.

- Carbones sp^2 (aromatiques et oléfiniques)

+ Dans le cas du Podzol : Les pourcentages de Csp^2, les carbohydrates n'étant pas pris en compte, se situent respectivement

entre 31 et 34 % dans le résidu restant après traitement aqueux

entre 36 et 39 % dans le résidu d'hydrolyse acide.

Dans ce dernier il est sensiblement plus élevé que dans l'Humine de départ (où il n'est que de 30 à 32 %).

L'hydrolyse acide a extrait de l'ordre de 9 à 15 % des carbones sp^2 et plus de 20 % des carbones sp^3 du résidu restant après le traitement aqueux alors que l'eau à 70-75°C a "solubilisé" proportionnellement plus de carbones sp^2 que de carbones sp^3.

Comme précédemment, on peut se demander si, lors de l'extraction, il n'y aurait pas néoformation de constituants aromatiques à partir des monosaccharides et acides aminés produits par l'hydrolyse.

Cette hypothèse impliquerait, pour que ces constituants se retrouvent dans le résidu,

. soit que les unités structurales aromatiques formées se condensent très rapidement pour former un précipité insoluble (-le temps qui s'écoule entre le début de l'extraction et la lyophilisation du résidu ne dépasse pas 48 heures-)

. ou qu'elles soient immédiatement et irréversiblement adsorbées ou piégées par les constituants qui ne sont pas solubilisés.

Si on se réfère aux travaux de Popoff et al [82], les unités structurales aromatiques qui sont générées en milieu acide à partir des oses, sont en général riches en groupements oxygénés, groupements phénol notamment.

- Si des quantités notables de constituants de ce type étaient effectivement synthétisées lors du traitement acide et, surtout, incorporées au résidu, les signaux qui apparaissent respectivement entre 145 et 155 ppm et entre 110 et 120 ppm devraient être relativement plus marqués (comparativement aux autres groupes de signaux du domaine $110 < \delta < 160$ ppm) sur le spectre du résidu que sur celui de l'Humine.

C'est l'inverse qu'on observe.

- L'enrichissement du résidu en carbones sp^2, par rapport à l'Humine de départ, doit être essentiellement relatif.

- Comme nous l'avons souligné plus haut l'eau extrait surtout des produits aromatiques non apparentes à la lignine, associés aux polysaccharides ou adsorbés à la surface des micelles Humiques et des composés oléfiniques relativement labiles (carotenoïdes).

Ces constituants ne représentent qu'une faible proportion du matériau aromatique et oléfinique de l'Humine.

- Les carbones sp^2 qu'on retrouve dans le résidu relèvent de la lignine héritée, des unités aromatiques du nucleus des "macromolécules" Humiques, de tannins condensés et de composés terpeniques peu dégradables (résines).

. L'acidolyse de la lignine héritée doit être relativement limitée ici. L'empreinte des composants structuraux caractéristiques de cette dernière ($-OCH_3$ groupements $\gg$CH-O-Ar, $\gg$C-OH en ortho d'un C hétérosubstitué, groupe de signaux de la bande $114 < \delta < 118$ ppm correspondant aux Csp^2 protonés en ortho de C hétérosubstitués) est encore nettement décelable sur le spectre du résidu.

Ceci peut être dû au fait qu'elle est en grande partie soustraite à l'action de l'acide par d'autres constituants auxquels elle est liée (au sein de complexes polymoléculaires) ou associée (c'est-à-dire qui la séquestrent).

N.B. : En milieu acide, une partie des monomères ou oligomères de type guaiacyl libérés suite à la coupure, des liaisons $\gg$CH-O-CH$<$ peuvent être refixées au niveau du résidu (par liaison covalente de type C-C [12]).

. Les liaisons de type C-C, C-N=C, C-NH-C ou C-O-C qui relient entre elles les unités structurales du "nucleus" ne doivent pratiquement pas être affectés.

. Les tannins condensés et les résines ne sont ni hydrolysés ni "solubilisés".

— La plus grande partie des carbones sp^3 participant des chaines peptidiques (et qui contribuent aux résonances dans les domaines A, B et F) se retrouvent dans l'hydrolysat.

Ceci explique que le "taux d'extraction moyen" des Csp^3 soit plus élevé que celui des Csp^2 et que la part prise par ces derniers soit relativement plus importante dans le résidu que dans l'Humine.

+ Dans le cas de la Rendzine : Le pourcentage de carbones sp^2, carbohydrates non pris en compte, se situe entre 29 et 32 % dans le résidu restant après traitement

aqueux et hydrolyse acide, contre 25 et 27 % dans l'Humine.

Le pourcentage moyen de carbones sp^3, autres que ceux participant de carbohydrates (en équivallents glucose), extrait par l'ensemble des traitements mis en oeuvre se situe entre 50 et 55 %, alors que le "taux d'extraction moyen" des carbones sp^2 est de l'ordre de 47 à 50 %.

Comme dans le cas du Podzol, le résidu est apparemment enrichi en Csp^2.

—— En fait, la différence doit être beaucoup moins marquée qu'il n'apparait en première analyse.

Nous avons souligné que, dans le cas de la Rendzine, la démarche qui consiste en quelque sorte à prendre en compte la composante polysaccharidique comme un ensemble d'enchainements glucopyranose ne permet qu'une évaluation très approximative de la part que doivent prendre les carbones correspondants dans le schéma structural.

Une partie des Csp^3 qui sont pris en compte ici dans la détermination "taux moyen d'extraction" participent en fait des unités structurales des polysaccharides (CH_3COO- et -COOH contribuant au massif F, $>CH-NH_2$ contribuant au massif B du spectre de l'Humine).

Le pourcentage effectif de Csp^3, participant de constituants autres que polysaccharidiques, extrait par l'ensemble des traitements (H_2O et HCl) ne devrait pas dépasser 50 %.

—— On notera que la proportion de carbones sp^2 "solubilisés" (pour l'essentiel par le traitement acide) est ici globalement plus importante que dans le cas du Podzol.

L'acidolyse de la "lignine héritée" doit être plus poussée, ce qui tendrait à indiquer qu'elle est plus "accessible" (après solubilisation de la pellicule protectrice de carbonate de Ca qui la soustrait à la biodégradation) que dans le Podzol.

Enfin il est possible que dans la Rendzine la proportion d'unités structurales aromatiques liées aux carbohydrates et qui sont extraits avec ces derniers lors de l'hydrolyse acide, soit relativement plus importante que dans le Podzol.

Composantes structurales aliphatiques

+ Dans le cas du Podzol : Le pourcentage de carbones sp^3 protonés (dont les signaux contribuent aux massifs A et B) extraits par HCl, à partir du résidu restant après traitement aqueux est de l'ordre de 24 %.

Le pourcentage global de carbones de ce type "extraits" par l'ensemble des traitements (H_2O + HCl) mise en oeuvre, à partir de l'Humine, se situe entre 24 et 26 %.

— La plus grande partie de ces carbones participent des chaines peptidiques dont les groupements -CO-NH- sont hydrolysés par HCl.

. La proportion de carbones directement liés à un atome d'azote est passé de

8 à 12 %, dans l'Humine (C/N : 23,7) à 2 à 5 % dans le résidu restant après hydrolyse acide (C/N : 41)-

- Une autre partie, doivent participer des groupements $-CH_3$, CH_3COO-, du motif **structural des polysaccharides** (unités structurales fortement substituées des constituants Hemicellulosiques qui n'ont pas été extraits en totalité par l'eau à 70-75°C).

Ces carbones résonnent dans la plage $10 < \delta < 25$ ppm. Les épaulements (-1-) et (-2'-) sont moins prononcées (par rapport à la bande -3-) sur le spectre du résidu que sur celui de l'Humine.

- La bande (-3-) est ici plus marquée que sur le spectre de l'Humine.

Les constituants ou motifs aliphatiques à longue chaine (peu ou non ramifiés et peu fonctionalisés) ne sont pas "extraits". La part qu'ils prennent dans le schéma structural augmente relativement après hydrolyse.

- Les épaulements (-4-) et (-5-) sont bien individualisés sur le spectre de cet échantillon.

Nous les avons attribués respectivement :

(-4-) aux signaux - des $-CH_2$ de groupements $-(CH_2)_n-$ ($n > 4$) en α de groupements COOH (acides gras à longue chaine) et -COO-R (groupements esters de lipides non ramifiés à longue chaine, cires entre autres)

- des $-CH_2$ - de groupements $-(CH_2)_n-$ ($n > 4$) en α et β de carbones aromatiques (chaines alkyles peu reliées aux unités structurales aromatiques par l'intermédiaire de liaisons $\geqslant C(Ar)-C$).

(-5-) aux signaux des $-CH_2-$ et -CH- pontants entre noyaux aromatiques.

Ces groupements et liaisons ne doivent être que peu affectés par le traitement mis en oeuvre ici.

+ Dans le cas de la Rendzine : les pourcentages de carbones sp^3 protonés extraits par l'ensemble des traitements (H_2O + HCl) se situent

. entre 40 et 44 % pour ce qui est des Csp^3 dont les signaux contribuent au massif A

. entre 50 et 55 % pour ce qui est des Csp^3 dont les signaux contribuent au massif B.

- Les spectres du résidu et de l'Humine présentent un certain nombre de différences significatives dans le domaine $5 < \delta < 60$ ppm.

- L'épaulement (-2'-), entre 18 et 25 ppm, n'est plus que faiblement marqué sur le spectre du résidu.

Les signaux correspondant aux $-CH_2-$ et $>CH-$ du squelette carboné des chaines peptidiques (et qui se distribuent de façon quasi uniforme dans la bande $25 < \delta < 45$ ppm) sont beaucoup moins marqués ici que sur le spectre de l'Humine.

La hauteur du massif de résonance basal, dans cette plage de δ, diminue.

La bande (-3-) se détache maintenant légèrement de ce dernier. Nous montrerons plus loin que l'essentiel des groupements $-(CH_2)_n-$, dans l'Humine de ce sol participent de l'Humine de précipitation. Ils sont bien marqués sur le spectre de cette

dernière (voir figure 35b p. 138). On estime que les signaux de ces groupements contribuent sur le spectre du résidu d'hydrolyse pour 20 à 25 % à l'aire du massif A.

Sur le spectre de l'Humine cette part est beaucoup plus réduite.

- L'aspect général du spectre de la figure 34, dans les domaines A et B reste comparable à celui du spectre de l'Humine.

En d'autres termes les motifs ramifiés, linéaires et (ou) cycliques, représentent ici encore, à côté des enchainements peptidiques, la composante structurale la plus importante de la fraction aliphatique.

La plus grande partie des carbones sp^3 qui sont extraits par le traitement acide mis en oeuvre, doivent participer, comme dans le cas du Podzol, de motifs structuraux associés aux carbohydrates, polypeptides et protéines.

Les motifs ramifiés linéaires (motifs isoprenoïdes) et (ou) cycliques des lipides d'origine microbienne ne sont pratiquement pas "extraits" et se retrouvent en grande partie dans le résidu (comme les motifs polyméthyléniques peu ou non ramifiés qui relèvent de l'Humine de précipitation).

En résumé

- L'eau à 70-75°C "solubilise" les quantités non négligeables de constituants organiques de l'Humine.

Les pourcentages de carbone et d'azote qui passent en solution diffèrent notablement d'un sol à l'autre. Ils sont près de trois fois plus élevés dans le cas de la Rendzine que dans le cas du Podzol.

Les diverses "formes" de carbones ne sont pas extraites dans les mêmes proportions. La composition radicalaire du matériau organique dans l'extrait aqueux diffère sensiblement de la composition radicalaire moyenne de l'Humine.

L'action de l'eau ne se limite donc pas à un simple fractionnement physique (qui aurait pour effet d'amener en suspension des matériaux fins dont la composition radicalaire ne serait que le reflet de celle de l'Humine).

Il y a solubilisation sélective de certains composants.

1- Les carbones qu'on retrouve dans l'extrait aqueux participent pour l'essentiel de carbohydrates et de groupements, motifs structuraux, et constituants associés à ces derniers.

Les polysaccharides du sol peuvent avoir différentes origines. Ils présentent une grande diversité de compositions et de structures et sont souvent associés à d'autres constituants au sein de complexes macromoléculaires. Ils montrent donc des

solubilités très variables.

L'eau extrait surtout des Hemicelluloses et certains polysaccharides d'origine microbienne, fortement substitués et ramifiés (et ne comportant donc qu'une proportion relativement faible de liaisons hydrogènes).

La cellulose constituée de chaines de β-D-glucopyranose non ramifiées et reliées entre elles par de nombreux ponts H n'est pratiquement pas solubilisée par l'eau, même à haute température.

Le fait que la proportion de carbones extraits soit nettement plus importante dans le cas de la Rendzine que dans le cas du Podzol, alors que ce dernier contient des teneurs en carbohydrate sensiblement plus élevées, indique que la nature du matériau polysaccharidique doit différer quelque peu dans ces deux types de sols.

⟶ Dans la Rendzine la part des Hemicelluloses et polysaccharides d'origine microbienne doit être importante.

⟶ Dans le Podzol où l'activité biologique est réduite, la cellulolyse est beaucoup moins rapide que dans la Rendzine. La "cellulose héritée" est largement prédominante.

2- Le traitement mis en oeuvre ici ne provoque pas d'hydrolyse notable des liaisons peptidiques.

La teneur en azote, dans l'extrait lyophilisé, n'est pas plus élevée que dans l'Humine. Dans le cas de la Rendzine elle est même légèrement plus faible.

Le matériau azoté qui passe en solution doit être constitué pour l'essentiel d'aminoacides et de peptides associés aux carbohydrates, et d'aminosucres. Les aminoacides et oligopeptides "libres" ayant en grande partie du être extraits par le mélange pyrophosphate-soude lors de la séparation préalable des acides humiques et par HCl (lors de la décarbonatation, dans le cas de la Rendzine).

3- L'extrait contient une proportion relativement plus élevée de groupements oxycarbonés, notamment de groupements carboxyles, que l'Humine.

Cette augmentation du taux de fonctionalisation oxycarboné apparent moyen est surtout relative. Il ne devrait pas, dans les conditions où nous opérons, intervenir d'oxydation notable lors de l'extraction.

⟶ Les carbones sp^3 (autres que les $C_{2 \text{ à } 6}$ des unités glucopyranoses) qui passent en solution participent pour l'essentiel de groupements oxycarbonés (CH_3, -COO-, $-COOCH_3$, -COOH, $-OCH_3$) et de motifs fortement fonctionalisés associés aux polysaccharides.

Les constituants paraffiniques à longue chaine, les motifs isoprenoïdes et les motifs cycliques et polycycliques saturés des lipides dérivant de la biomasse microbienne, ainsi que les groupements aliphatiques protonés participant du squelette

structural des polypeptides et protéines ne sont pratiquement pas "solubilisé".

4- Dans le cas du Podzol, la teneur en carbones aromatiques et (ou) oléfiniques est légèrement plus élevée dans l'extrait aqueux que dans l'Humine.

Dans la mesure où les extraits sont lyophilisés immédiatement après leur séparation la néoformation d'unités structurales aromatiques à partir des oligomères glucidiques et des aminoacides qui passent en solution doit rester limitée.

Dans le cas de la Rendzine où les quantités de carbohydrates et de produits azoté solubilisées sont nettement plus importantes la teneur en carbones sp^2 est pratiquement du même ordre dans l'extrait que dans l'Humine.

L'enrichissement qu'on observe dans l'extrait provenant du Podzol doit encore être essentiellement relatif. (Les constituants paraffiniques à longue chaine qui, comme nous l'avons souligné, ne sont pas extraits prenant une part particulièrement marquée dans le schéma structural de ce sol).

L'eau n'extrait que des constituants aromatiques peu condensés, riches en groupements polaires et qui doivent, en grande partie, être associés aux carbohydrates (ce qui expliquerait que la proportion de Csp^2 extraits soit globalement plus importante dans le cas de la Rendzine).

Dans le Podzol ces constituants ne représentent qu'une fraction très réduite du matériau aromatique de l'Humine.

La "lignine héritée" n'est pratiquement pas affectée par le traitement aqueux.

- Le traitement acide extrait des quantités de matériau organique beaucoup plus importantes.

Les pourcentages de carbone et d'azote "solubilisés" sont globalement plus élevés dans le cas de la Rendzine que dans le cas du Podzol. Ils se situent respectivement

. entre 48 et 50 % et entre 32 et 33 % pour ce qui est du carbone,

. entre 67 et 70 % et entre 60 et 64 % pour ce qui est de l'azote.

Comme dans le cas précédent, les différentes "formes" de carbones ne sont pas extraites dans les mêmes proportions.

1- Trois attaques successives de 6 à 7 heures chacune par HCl concentré chaud n'ont cependant pas permis d'hydrolyser la totalité des carbohydrates qui n'ont pas été solubilisés par l'eau à 70-75°C.

Dans le résidu d'hydrolyse les proportions de carbohydrates se situent encore (en pourcentage du C total)

. entre 6 et 10 % dans le cas du Podzol

. entre 5 et 8 % dans le cas de la Rendzine.

- Les proportions de carbohydrates extraits à partir de l'Humine par l'ensemble des traitements (aqueux et acide) mis en oeuvre sont du même ordre dans les deux

cas -elles se situent entre 72 et 76 %- bien que leurs teneurs dans cette dernière diffèrent sensiblement d'un sol à l'autre.

- L'Humine de la Rendzine comporte une proportion nettement plus élevée de carbohydrates "hydrosolubles" que celle du Podzol.

Dans ce dernier par contre les polysaccharides non extraits par l'eau sont hydrolysés dans une proportion plus importante par HCl concentré chaud, que dans la Rendzine -70 à 72 % contre 55 à 60 %-

Ceci pourrait être lié au fait que dans cette dernière ils participent de complexes macromoléculaires (glycolipides, glycoprotéines) ou sont en partie séquestrés au sein des espaces lacunaires d'un réseau de composants hydrophobes ce qui aurait pour effet de les soustraire physiquement à l'action de l'acide.

—— Le matériau polysaccharidique qui reste après hydrolyse est constitué pour l'essentiel

- dans le Podzol de cellulose héritée bien "structurée" (microfibrilles)
- dans la Rendzine de polysaccharides dérivant de la biomasse microbienne : chaines hétérosidiques, relativement courtes, fortement ramifiées liées à d'autres constituants (par l'intermédiaire de ponts glycosidiques, ether ou esters).

2- HCl hydrolyse les liaisons peptidiques les acides aminés libérés passent dans l'hydrolysat. L'azote α aminé représente plus de 60 % de l'azote extrait.

- Dans le cas du Podzol la plus grande partie des polypeptides et constituants protéiques de l'Humine sont ainsi solubilisés. Dans le résidu les carbones sp^3 directement liés à un N, c'est-à-dire participant de groupements amide, pour l'essentiel, ne représentent pas plus de 1 à 2 % du C organique total.

- Dans le cas de la Rendzine, bien que le taux d'extraction de l'azote soit légèrement plus élevé que dans le cas du Podzol on retrouve dans le résidu des quantités de polypeptides et constituants protéiques beaucoup plus importantes.

- Les Csp^3 engagés dans des groupements amide représentent encore de l'ordre de 6 à 8 % du C organique total.

⟶ L'Humine de la Rendzine étant nettement plus riche en constituants azotés que celle du Podzol, il est possible que le traitement mis en oeuvre n'a pas été suffisant (en particulier le nombre d'attaques successives n'a pas été suffisant) pour hydrolyser la totalité des liaisons peptidiques.

Les liaisons C-N impliquant des carbones sp^2 (phénylamines, hétérocycles azotés, pont =N- et -NH- entre noyaux aromatiques) sont relativement peu affectés par le traitement acide.

On estime que la proportion de carbones sp^2, participant de liaisons C-N a diminué au plus de 35 à 45 % après l'ensemble des traitements mis en oeuvre. (Une grande partie des Csp^2 ainsi extraits doivent participer d'aminoacides aromatiques qui passent en "solution" après hydrolyse des liaisons -CO-NH- correspondantes).

3 - Le taux de fonctionalisation oxycarboné moyen (les carbohydrates n'étant pas pris en compte) du résidu est inférieur à celui de l'Humine.

La différence est faible dans le cas du Podzol : 21 à 24 % contre 23 à 26 %

La différence est nettement plus marquée dans le cas de la Rendzine 25 à 29 % contre 33 à 36 %.

Les divers types de groupements oxycarbonés ne sont pas affectés dans les mêmes proportions.

Du fait de la coupure des liaisons peptidiques les groupements amide ne prennent plus qu'une part très réduite dans le schéma fonctionnel du résidu d'hydrolyse de l'Humine du Podzol.

Dans le cas de la Rendzine elle est nettement plus faible que dans l'Humine mais reste encore appréciable.

⟶ Il ne semble pas que les groupements esters des lipides à longue chaine qui prennent une importance particulière dans l'Humine du Podzol, de même que ceux des lipides fortement ramifiés dérivant de la biomasse microbienne qui prédominent dans la Rendzine aient été hydrolysés dans des proportions notables (dans le cadre des conditions expérimentales qui sont mises en oeuvre ici).

Le taux moyen d'hétérosubstitution des carbones sp^2 est sensiblement moins élevé dans le résidu d'hydrolyse que dans l'Humine. Il passe

. de 24 à 26 % à 20 à 23 % dans le cas du Podzol

. de 27 à 30 % à 20 à 24 % dans le cas de la Rendzine.

Nous verrons qu'il en est de même dans l'Humine de précipitation. Cette dernière est par contre relativement plus riche en groupements $\geqslant$C-COOH (ou R) que l'Humine, surtout dans la Rendzine.

Dans ce sol la part que prend l'Humine de précipitation dans le "spectre biochimique" est près de deux fois plus importante que dans le Podzol.

Dans le résidu d'hydrolyse de la Rendzine la composition fonctionnelle de la fraction aromatique est en partie le reflet de celle de cette dernière.

- Les hydracides concentrés sont pratiquement sans action sur les groupements phénols.

Les motifs hétérocycliques azotés ainsi que les ponts -N= ou -NH- reliant entre elles les unités structurales du "nucleus" ne doivent être que peu affectés.

Une partie des groupements $-OCH_3$ ainsi que les groupements amide par l'intermédiaire desquels les chaines peptidiques se greffent sur ces dernières sont coupés. Ceci ne suffit cependant pas pour expliquer ces différences.

⟶ Le traitement acide doit "extraire" des unités ou motifs aromatiques fortement hétérosubstitués.

. Une certaine acidolyse de la lignine héritée a dû intervenir. Elle semble plus marquée dans le cas de la Rendzine que dans le cas du Pdozol. Les unités de type guaiacyle ou syringyle "libérées" par suite de la coupure des liaisons

aryl-alkyl ethers ont dû passer en partie dans l'hydrolysat.

. Enfin, comme dans le cas du traitement aqueux des unités aromatiques polyhydroxylées associées aux polysaccharides ont été extraites avec ces derniers.

4 - Le résidu d'hydrolyse contient des proportions plus élevées de carbones aromatiques et oléfiniques que l'Humine de départ.

Dans le cas du Podzol, les carbones de type sp^2 représentent de 22 à 24 % du C organique total de l'Humine. Dans le résidu leur proportion dépasse 34 %.

Dans le cas de la Rendzine ces pourcentages sont respectivement de 20 à 23 % dans l'Humine contre 28 à 30 % dans le résidu.

Si les carbohydrates ne sont pas pris en compte dans l'évaluation du "taux d'aromaticité" les écarts sont nettement moins importants.

Ainsi dans le cas du Podzol la teneur en carbones sp^2 passe de 30 à 33 % dans l'Humine à 36 à 39 % dans le résidu.

Dans le cas de la Rendzine la différence est encore moins marquée. Le pourcentage de carbones sp^2 se situe entre 25 et 27 % dans l'Humine et n'atteint pas 30 % dans le résidu.

- Dans les conditions où nous opérons la néoformation d'unités structurales aromatiques en cours d'extraction, à partir des oligomères et monomères glucidiques et des aminoacides qui passent en solution, reste limitée.

L'augmentation de "l'aromaticité" dans le résidu est surtout relative.

. Dans le cas du Podzol, comme nous l'avons souligné, l'acidolyse de la "lignine héritée" ne semble pas très poussée.

L'essentiel des composés aromatiques peu condensés, non apparentés à la lignine ou provenant de la biodégradation de cette dernière et dont l'importance relative est très réduite, dans ce sol, ont été extraits par le traitement aqueux.

Par contre la plus grande partie des Csp^3 participant du squelette carboné des polypeptides et constituants protéiques passent ici dans l'hydrolysat.

L'hydrolyse acide extrait de 20 à 24 % des carbones de type sp^3 (carbohydrates non pris en compte) contre seulement 9 à 14 % des carbones sp^2, du résidu restant après traitement aqueux.

+ Dans le cas de la Rendzine la proportion globale de carbones sp^2 extraits par l'ensemble des traitements (aqueux et acide) est sensiblement plus importante que dans le cas du Podzol.

Elle se situe entre 47 et 50 %, contre 10 à 15 % seulement dans ce dernier.

L'organisation du matériau organique à l'échelle microscopique, sa distribution plus ou moins uniforme au sein de la matrice minérale doivent conditionner dans une mesure non négligeable les taux d'extraction.

Dans la Rendzine où l'activité biologique est intense le matériau organique

est dispersé au sein de la matrice minérale alors que dans le Podzol il se concentre en grande partie dans les boulettes **fecales** de la microfaune [28].

- L'état de division, de "dilution physique" beaucoup plus marqué dans lequel doit se trouver la lignine héritée dans la Rendzine doit faciliter l'acidolyse (après solubilisation des coatings de carbonate de Ca qui **enrobent** les microfragments membranaires, les soustrayant à la biodégradation [28]).

- Dans les microagrégats coprogènes du Podzol elle peut, en partie être séquestrée dans les espaces lacunaires d'un réseau de chaines paraffiniques hydrophobes qui la soustraient physiquement à l'action de l'acide.

Une étude morphologique systématique (aussi bien au microscopique optique qu'au microscope à balayage) des fractions et extraits successifs, devrait apporter ici d'utiles compléments d'informations. Elle permettrait, notamment, de conforter l'interprétation que nous proposons et qui pour le moment reste du domaine de l'hypothèse de travail.

Il convient enfin de tenir compte du fait que nous avons chaque fois utilisé le même rapport échantillon/réactif -soit 10 g/100 ml- alors que les teneurs en C organique de ces deux sols diffèrent fortement.

Pour pouvoir comparer valablement l'effet des traitements mis en oeuvre dans le cas des différents sols et en tirer des conclusions plus significatives, il importera de modifier quelque peu le protocole expérimental en

. mettant en oeuvre des rapports échantillon/réactif nettement plus élevés

. en choisissant le poids d'échantillon de telle façon que le rapport C organique/réactif soit chaque fois le même.

II. Humine de précipitation

Cette fraction regroupe l'ensemble des constituants qui sont extraits par la soude 0,1 N à froid (à pH 12) respectivement après hydrolyse HCl (Humine de précipitation AH1) et après attaque fluorhydrique (Humine de précipitation AH2).

Ils se subdivisent en deux sous ensembles en fonction de leur solubilité en milieu acide (pH 2), à l'exemple des Acides Humiques et Fulviques.

Dans les trois sols étudiés ici les quantités de carbone et d'azote extraits après hydrolyse HCl sont nettement plus élevées que çelles qui ne deviennent extractibles qu'après le traitement HF.

Les proportions de carbone et d'azote de l'Humine qu'on retrouve respectivement dans l'extrait AH1 (I) et la fraction qui précipite à pH 2 (II) sont données dans le tableau suivant.

Sol	I		II	
	C	N	C	N
Podzol	14 à 16 %	15 à 17 %	6 à 8 %	8 à 11 %
Rendzine	21 à 23 %	16 à 17 %	13 à 15 %	10 à 12 %
Sol Andique				
A_0 (1-5 cm)	14 à 17 %	12 à 13 %	10 à 11 %	8 à 10 %
A_1 (15-25 cm)	18 à 20 %	19 à 21 %	15 à 17 %	12 à 14 %

— Dans le cas du sol Andique la plus grande partie du carbone et de l'azote extraits passent dans la fraction précipitable.

— Dans la Rendzine et, surtout, dans le Podzol la composante acidosoluble prend nettement plus d'importance. Dans le cas du Podzol 50 % du carbone extrait se retrouve dans cette dernière.

On notera encore

- que dans la Rendzine (où l'activité biologique est importante) l'Humine de précipitation prend une part sensiblement plus importante dans le "spectre biochimique" [28] que dans le Podzol.
- que dans le sol Andique son importance relative augmente au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la surface (c'est-à-dire que le degré d'évolution de la matière organique augmente).

Nous n'avons étudié ici, par RMN ^{13}C, que la fraction précipitable de la composante AH 1.

Les spectres correspondants sont représentés sur les figures (35 et 36).

- Ces spectres ont la même allure générale et montrent un ensemble de caractéristiques communes, que nous allons détailler, alors que les spectres des Humines correspondantes diffèrent fondamentalement.

+ Carbohydrates

Le pourcentage d'aire du massif C, rapporté à l'aire de l'ensemble du domaine des carbones sp^3, [% C/% C + % B + % A] se situe

. entre 34 et 36 % dans le cas de la Rendzine

. entre 31 et 33 % dans le cas du Podzol

. entre 20 et 22 % dans le cas de l'échantillon de surface du sol Andique

. entre 12 et 14 % dans le cas de l'échantillon (15-25 cm) du sol Andique.

+ Considérons d'abord le cas de l'échantillon de surface du sol Andique (spectre 36a).

Le pourcentage d'aire du massif C, rapporté à l'aire totale du spectre entre 0 et 220 ppm, est de 10 %.

La fraction d'aire qui doit correspondre aux signaux des $-CH_2OH$ et $>CHOH$ des unités structurales de carbohydrates est ici largement inférieure à 50 %.

. Les signaux de la bande $72 < \delta < 76$ ppm ne se différentient pas du massif de résonances basal.

. L'empreinte de la bande des carbones anomériques (épaulement 12) est à peine décelable au niveau du massif D.

La part des carbohydrates (en % C) doit être nettement inférieure à 5 % dans la fraction non acidosoluble de l'Humine de précipitation de ce sol.

+ Sur le spectre de l'Humine de précipitation du Podzol (figure 35a) le massif de résonances C est nettement plus marqué que sur le spectre précédent. Son pourcentage d'aire est de l'ordre de 16 %.

Sur la figure (37) sont représentés les spectres IR des Humines de précipitation du Podzol, du sol Andique et de la Rendzine.

Les épaulements p et p' entre 1010 et 1070 cm^{-1}, auxquels contribuent les bandes $\nu C-O$ des groupements $-CH_2OH$ et $>CHOH$ des polysaccharides, sont légèrement plus prononcés sur le premier que sur le second. (La bande $\nu C-H$ des $-(CH_2)_n-$ vers 2920 cm^{-1} étant prise comme référence de comparaison).

Sur le spectre RMN de l'Humine de précipitation du Podzol l'empreinte de la bande des carbones anomériques (épaulement 12) est un peu plus marquée que sur celui de l'Humine de précipitation du sol Andique.

Figure 35 a

Podzol A1
Humine de précipitation AH1
Fraction non acidosoluble
Teneur en C 57,07 %
C/N 17,74
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans 8000

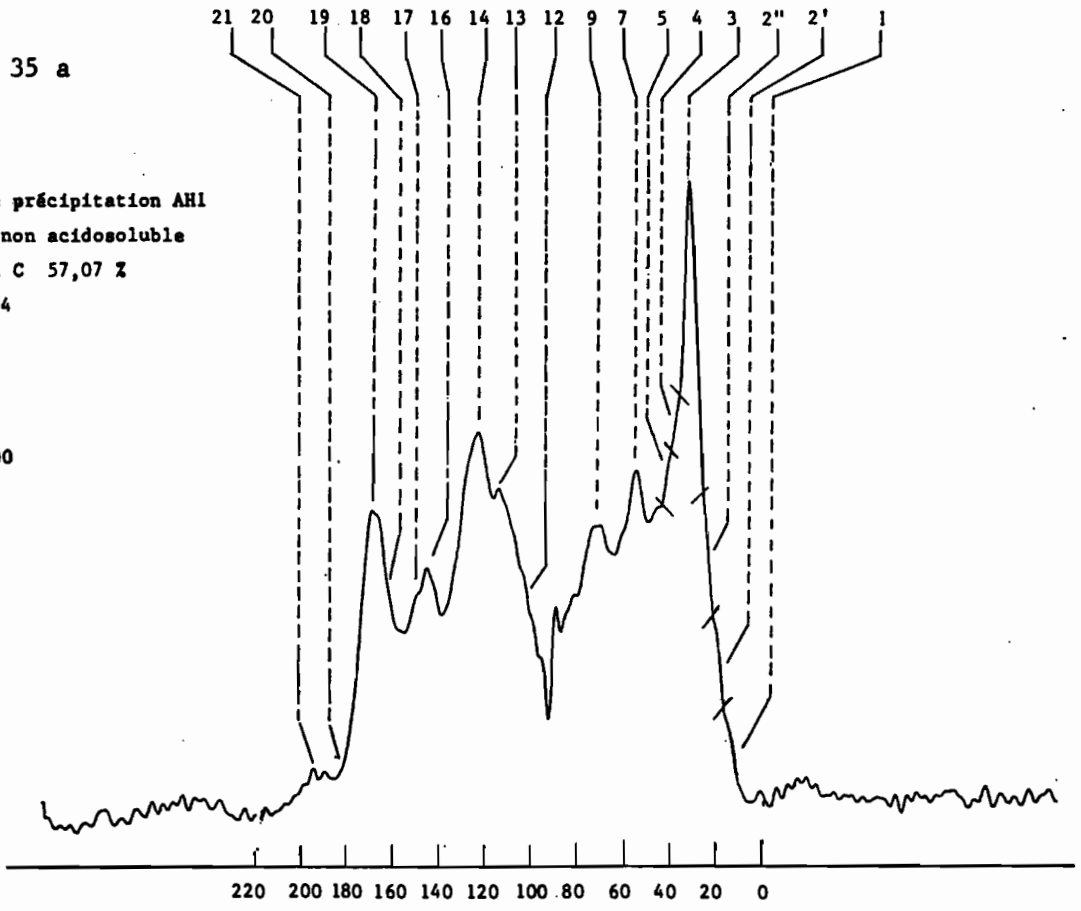
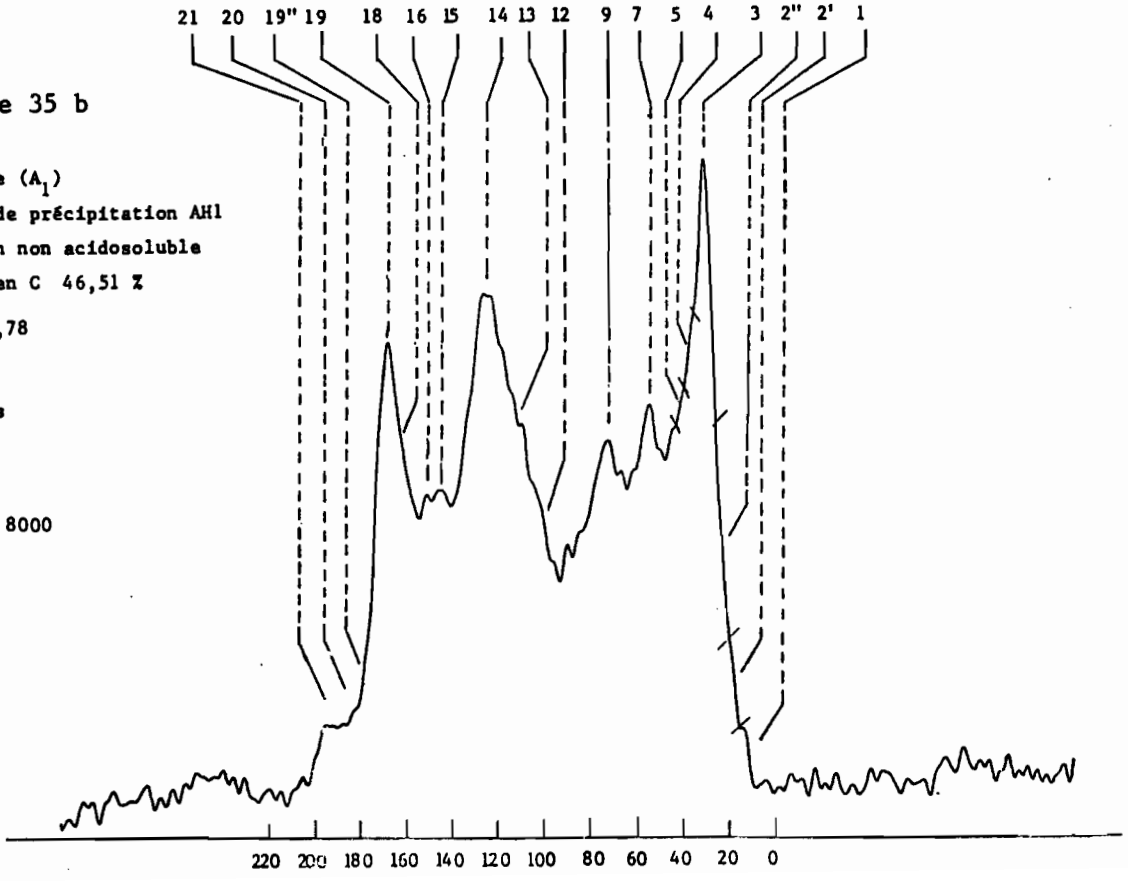


Figure 35 b

Rendzine (A_1)
Humine de précipitation AH1
Fraction non acidosoluble
Teneur en C 46,51 %
C/N 13,78
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans : 8000



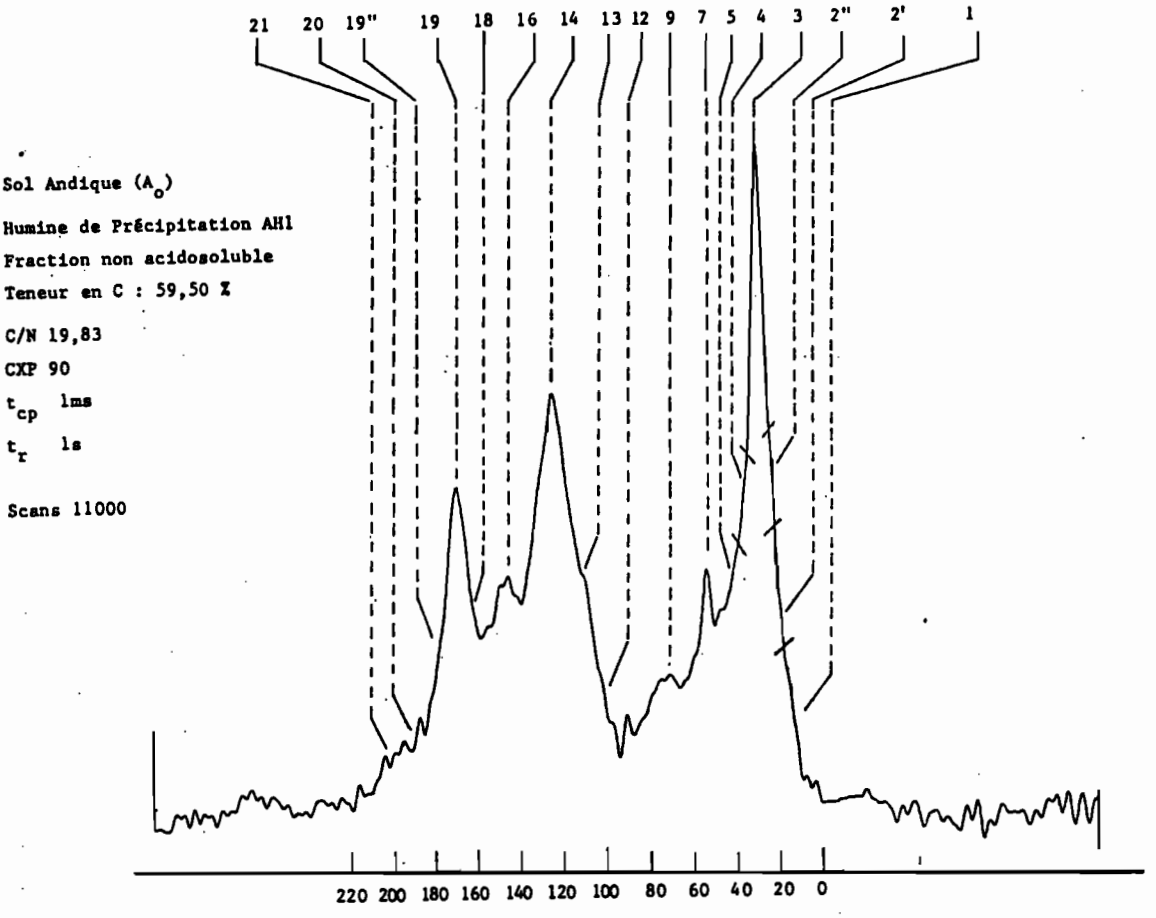


Figure 36a

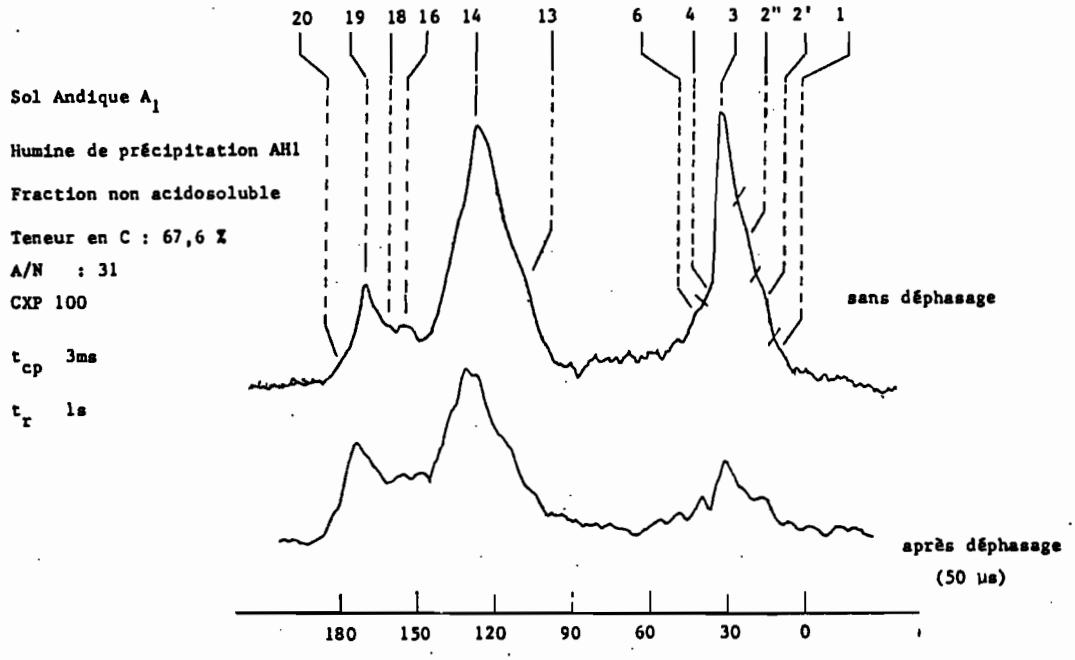


Figure 36b

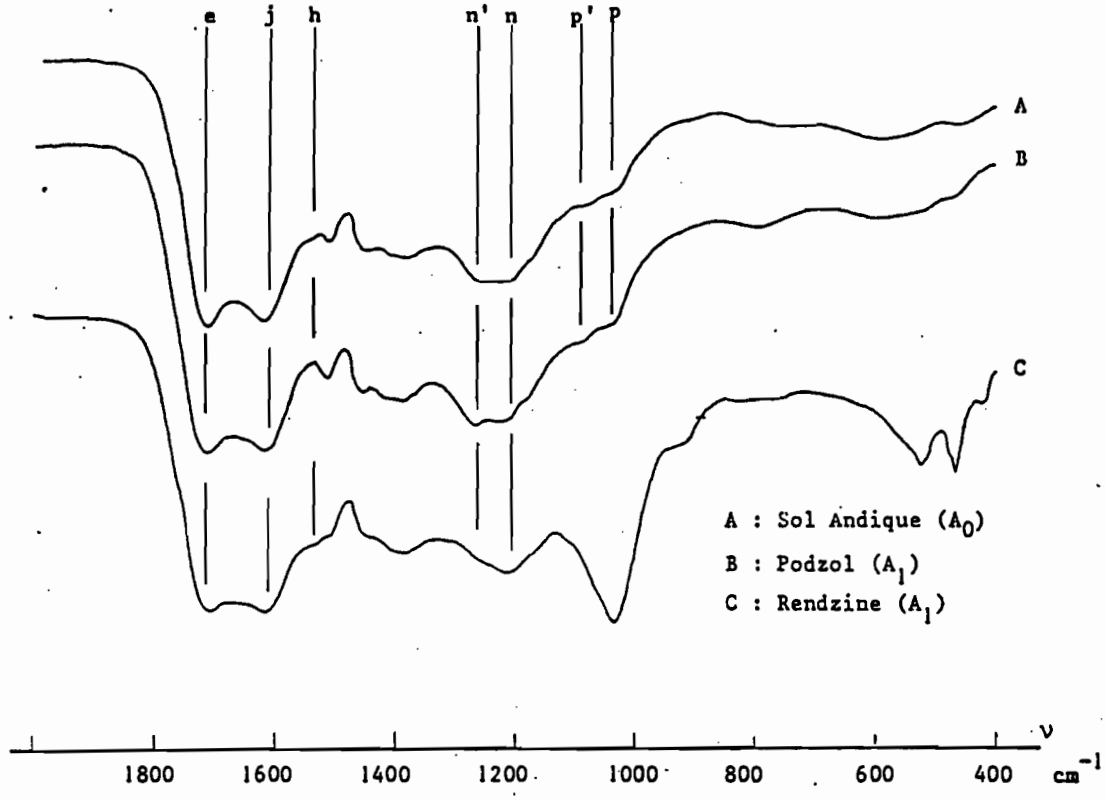


Figure 37 : Humines de précipitation AH. (non acidosoluble)

La teneur en carbohydrates doit être légèrement plus élevée dans la première. Elle ne devrait cependant pas dépasser 5 % (en % C).

- Dans cette hypothèse, au plus 25 % de l'aire du massif C doit correspondre aux signaux de carbones participant des carbohydrates.

Les 75 % restants peuvent être attribués aux signaux des groupements oxycarbonés (-OH, ether ou esters) des "macromolécules" Humiques ou de composants non humiques autres que les carbohydrates (lipides).

+ Le massif très marqué entre 950 cm^{-1} et 1110 cm^{-1} sur le spectre IR de l'Humine de précipitation de la Rendzine correspond en grande partie aux bandes d'absorption de constituants inorganiques (silice amorphe extraite par NaOH qui n'a pu être éliminée totalement lors de la purification). Il n'est donc pas possible à partir de ce spectre de se faire une idée, même relative, de la part que peuvent prendre les carbohydrates dans cet échantillon.

Sur le spectre RMN le groupe de signaux centrés autour de 73-74 ppm se détache nettement du massif de résonances basal (bande -9-).

L'empreinte des carbones anomériques (épaulement 12) est un peu plus marquée et les signaux de la bande 90 < δ < 100 ppm sont relativement plus intenses que sur le spectre de l'Humine de précipitation du Podzol.

La proportion de carbones participant des carbohydrates doit être légèrement plus élevée que dans cette dernière. Elle ne devrait cependant pas dépasser de beaucoup 5 %. Nous estimons qu'elle se situe entre 5 et 7 %.

Dans cette hypothèse de 65 à 70 % de l'aire du massif C doit, ici encore, correspondre aux signaux de groupements oxycarbonés autres que ceux des carbohydrates.

+ Carbones aromatiques et oléfiniques

Les "taux d'aromaticité" (les carbohydrates n'étant pas pris en compte) se situent respectivement

. entre 38 et 40 % dans l'Humine de précipitation du Podzol (dans l'Humine il est de l'ordre de 30 à 33 %)

. entre 39 et 42 % dans l'Humine de précipitation de la Rendzine (dans l'Humine il est de l'ordre de 25 à 27 %).

. entre 40 et 43 % dans l'échantillon de surface du sol Andique (dans l'Humine il est égal ou légèrement supérieur à 37 %.

. il dépasse 46 % dans l'échantillon provenant de l'horizon A_1 du sol Andique.

La part que prennent les carbones sp^2 dans le schéma structural, est dans tous les cas, nettement plus importante dans cette fraction que dans l'Humine correspondante.

- Dans le cas du Podzol, de la Rendzine et de l'échantillon de surface du sol Andique les "taux d'aromaticité" de l'Humine de précipitation sont très voisins -ils se situent à l'intérieur d'une fourchette allant de 38 à 43 %- alors que dans l'Humine ils diffèrent notablement d'un sol à l'autre (T_{ar} va de 25 à plus de 39 %).

On peut donc se demander si les composants structuraux aromatiques qu'on retrouve dans cette fraction participent bien d'entités qui préexistent dans l'Humine ou si une proportion notable d'entre eux ne seraient pas des artefacts.

En d'autres termes si lors de l'extraction et de la purification des extraits de nouveaux cycles aromatiques ne pourraient pas être générées ou des condensats polyaromatiques ne pourraient pas se former en milieu alcalin à partir de monomères ou oligomères aromatiques hydroxylés ou carboxylés (détachés de l'édifice structural de la lignine ou des constituants Humiques lors des traitements acides)

- L'extrait ne contenant ici que des teneurs relativement faibles de carbohydrates et d'amino acides il est peu probable que des quantités notables d'unités structurales aromatiques soient néoformées (à partir de composés aliphatiques).

- L'Humine de précipitation est purifiée, comme les acides Humiques, par floculations et peptisations successives. La "solution" obtenue en redispersant le précipité en milieu NaOH 0,1 N est chaque fois centrifugée à grande vitesse (20 000 t/mn pendant 30 minutes) avant d'être ramenée à pH 2.

Les culots de centrifugation successifs qu'on sépare ainsi sont lavés à l'eau distillée puis lyophilisés.

Le spectre RMN des culots obtenu lors de la purification de l'Humine de précipitation de la Rendzine (précipiténoir dont la teneur en C se situe autour de 8 %) est donné sur la figure (38).

- Si des quantités notables de condensats polyaromatiques se formaient lors de l'extraction et (ou) lors de la phase de purification (qui est relativement longue) elles devraient, au moins en partie, se retrouver dans le culot de

centrifugation, dont le taux d'aromaticité devrait être relativement élevé.

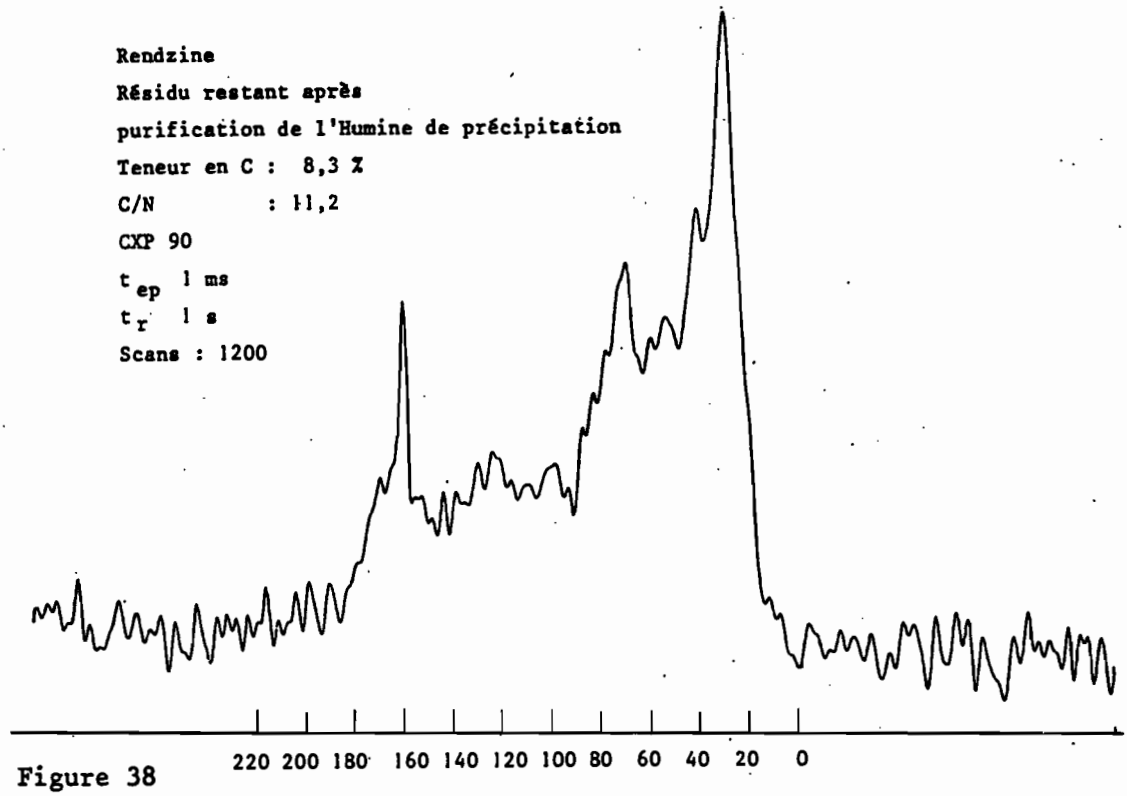


Figure 38

Le spectre de la figure (38) montre que tel n'est pas le cas. Les caractéristiques structurales de la fraction aromatique de ce matériau diffèrent fondamentalement de celles de la fraction aromatiques de l'Humine de précipitation.

En tout état de cause, 2 à 3 % seulement des carbones sp^2 extraits se retrouvent ici dans ce précipité. (Il doit s'agir, pour l'essentiel de motifs aromatiques fortement fonctionalisés liés aux minéraux argileux).

N.B. : Nous ne sommes pas en mesure d'établir un bilan quantitatif de la distribution des diverses formes de carbone (du résidu d'hydrolyse) entre les deux fractions de l'Humine de précipitation et le résidu restant après séparation de ces dernières.

. Les spectres RMN des fractions acidosolubles n'ont pas été relevés

. Ces fractions ont été purifiées (élimination des contaminants inorganiques, des Cl^-, décationisation) par dialyse continue contre de l'eau distillée.

Le taux de pertes est important (bien qu'on utilise une membrane de MWCO égal à 3500 équivallents protéines globulaires).

Sur l'ensemble des spectres de cette fraction le groupe de signaux de la bande $122 < \delta < 132$ ppm est nettement plus marqué que les autres.

+ Sur le spectre de l'Humine de précipitation provenant de l'horizon A_1 (15-25 cm) du sol Andique (dont on a relevé un spectre après déphasage dipolaire) plus de 65 % de l'aire du massif D correspond aux signaux de Csp^2 de type quaternaire.

Si on admet qu'il s'agit, pour l'essentiel, de carbones aromatiques, au moins 4 C, en moyenne, par cycle, doivent être directement liés à un autre C (groupements -COOH ou -COOR, groupements alkyle saturés, carbone sp^2 d'un autre noyau) ou doivent participer de motifs polyaromatiques.

— Les signaux de la bande $122 < \delta < 132$ ppm correspondent ici pour près de 75 % à des Csp^2 de type quaternaires.

La proportion de carbones sp^2 hétérosubstitués étant très réduite dans cet échantillon (moins de 1 sur 6 en moyenne) il doit s'agir pour l'essentiel de

. $\gtrless$ C-COOH (ou R) en ortho et para de carbones protonés ou alkyle substitués ou en meta et para d'un Csp^2 hétérosubstitué : $\gtrless$C-OH (OCH_3, -OR ou -OAr)

. Carbones, communs à deux cycles adjacents, des motifs polycycliques, ou hétéroaromatiques.

La part prise par ces derniers doit être relativement importante dans cet échantillon.

. Le pourcentage de carbones participant de groupements -COOH, esters ou amide aromatiques est nettement inférieur à 10 % (le pourcentage d'aire global du massif F ne dépassant pas 10 %), alors que la proportion de Csp^2 quaternaires contribuant au massif D, entre 122 et 132 ppm, dépasse 15 % (du C total).

Les rapports H/C (0,64) et O/C (0,28) très bas dans cette fraction, tendent à conforter cette hypothèse.

+ Le spectre de l'échantillon de surface de ce sol (figure 36a) présente la même allure générale que le précédent, dans le domaine D.

Le maximum (-14-) se situe vers 126-127 ppm.

Les $\gtrless$ C-COOH (ou R) prennent ici une part relative nettement plus importante dans le schéma fonctionnel de la composante aromatique qu'en A_1.

La proportion des Csp^2 hétérosubstitués est également plus élevée. Le rapport [% E/% E + % D] est de 0,22 dans le cas de l'Humine de précipitation de A_o, contre seulement 0,15 dans le cas de l'Humine de précipitation de A_1.

— Les deux spectres diffèrent notablement dans le domaine E.

. Sur le spectre de l'échantillon de surface le groupe de signaux de la bande $144 < \delta < 154$ ppm se détache nettement du massif de résonances basal.

Ces signaux peuvent être attribués à des $\gtrless$C-OH et $\gtrless$C-OCH_3 en position ortho.

La présence des groupements aryl-methoxyl, et leur importance relative, sont confirmées par la bande (-7-) bien marquée entre 55 et 38 ppm.

Les signaux des $\geqslant$C-OH se concentrent dans la bande 144 < δ < 149 ppm (maximum -16-). Ces groupements doivent pour la plupart se trouver en para d'un $\geqslant$C-COOH ce qui explique que l'effet blindant des $-OCH_3$ est moins marqué que prévu (l'essentiel des signaux des $\geqslant$C-OH devraient sinon apparaître dans la zone de δ < 144 ppm).

⟶ Des unités de type guaiacyl dérivant de la lignine doivent être ici intégrées dans la structure des "macromolécules" Humiques, après coupure des liaisons (β-O-4) et oxydation de la fonction alcool des Cα (la chaine propylique étant remplacée par un -COOH).

— Sur le spectre de l'Humine de précipitation provenant de A_1, ces signaux ne se différentient plus des autres composantes du massif E.

Ici ce sont les signaux de la bande 152 < δ < 160 ppm, qui doivent en grande partie correspondre à des Csp^2 participant de liaisons C-O-C pontantes, qui sont légèrement plus marqués.

Dans ce sol l'évolution semble donc se traduire, au niveau de l'Humine de précipitation par

. une diminution de la fonctionalisation et une déméthylation des unités structurales aromatiques dérivant de la lignine.

. une augmentation du degré de polycondensation et de réticulation du "nucleus aromatique".

+ Sur le spectre de l'Humine de précipitation du Podzol les signaux de la bande 115 < δ < 120 ppm sont, relativement, plus marqués que sur le précédent, ce qui a pour effet de décaler le maximum (-14-) de 3 à 4 ppm, dans le sens du champ croissant. Il se situe maintenant vers 122 ppm.

Le rapport [% E/ % E + % D] est du même ordre que dans l'échantillon de surface du sol Andique. Les signaux des $\geqslant$C-OH (composante -16- entre 140 et 148 ppm) et $\geqslant C-OCH_3$ (épaulement -17- entre 148 et 156 ppm), en position ortho sur le cycle, se détachent nettement du massif de résonances E.

—— Les motifs $(-OH ; -OCH_3)$-O disubstitués du type guaiacyl prennent une part notable dans le schéma structural de l'Humine de précipitation de ce sol.

- Les signaux qui contribuent au massif de résonances D, entre 124 et 140 ppm sont, relativement moins marqués sur ce spectre que sur celui du sol Andique.

. Les $\geqslant$C-COOH (ou R), qui contribuent respectivement aux résonances de la bande 124 < δ < 132 ppm et de la bande 169 < δ < 176 ppm du domaine F, prennent une part plus réduite dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation du Podzol.

Il est possible que, dans ce sol où la biodégradation de la lignine est beaucoup plus lente que dans le sol Andique, une proportion non négligeable de "fragments" structuraux peu altérés (motifs constitués de plusieurs noyaux guaiacyl encore reliés entre eux par des ponts $\geqslant$CH-O-Ar) provenant de cette dernière,

puissent être incorporés dans la structure des constituants Humiques.

— La proportion de carbones sp^2 participant de liaisons C-C, qui contribuent aux résonances dans la plage des $\delta > 130$ ppm est plus réduite dans l'Humine de précipitation de ce sol que dans celle du sol Andique.

⟶ Le degré de réticulation du "nucleus aromatique" doit être sensiblement moins important dans la première.

— Sur le spectre du Podzol, par contre, les signaux du domaine $95 < \delta < 114$ ppm sont relativement plus marqués que sur celui du sol Andique.

Cette différence n'est pas uniquement dûe à ce que la contribution des carbones anomériques est plus importante dans le premier.

Une bonne partie de ces signaux doivent correspondre à des carbones sp^2 : carbones protonés ou quaternaires en ortho de deux carbones hétérosubstitués (motifs M-disubstitués) ou en ortho et para d'un carbone hétérosubstitué (motifs 1, 2, 3 (hétéro) substitués), carbones sp^2 quaternaires de motifs polyhétérocycliques oxygénés.

Dans le Podzol où les unités structurales dérivant de la lignine (et qui sont pour l'essentiel, de type guaiacyl) ne doivent subir qu'une oxydation relativement limitée, avant d'être intégrées dans la structure des composés Humiques, ces motifs fortement hydroxylés doivent provenir en grande partie d'autres constituants.

Il pourrait s'agir, entre autres, d'unités structurales de tanins catechiques (qu'on trouve en teneurs notables dans les Mor dérivant de litières acidifiantes, Callune en particulier).

+ Dans la Rendzine les unités structurales aromatiques dérivant de la lignine sont essentiellement de type syringyle (ces motifs prédominant dans la lignine des feuillus).

Elles ne doivent entrer que pour une proportion relativement réduite dans la structure de l'Humine de précipitation de ce sol, ou on doit admettre qu'elles subissent préalablement des transformations très importantes.

— L'empreinte de ces configurations 1, 2, 3 (OH, OCH_3) substituées est en effet peu marquée sur le spectre de cette fraction.

. Les signaux de la bande $95 < \delta < 114$ ppm (correspondant aux carbones en ortho et para des $\geqslant C\text{-}OCH_3$) sont relativement réduits et ne se différentient pas significativement du massif de résonances basal (l'épaulement -12- devant être surtout associé aux carbones anomériques).

. La bande des $-OCH_3$, entre 55 et 58 ppm n'est pas plus marquée, relativement, que sur le spectre de l'Humine de précipitation du Podzol.

. Le rapport [% E/% E + % D] est ici de l'ordre de 0,20.

Même si on admettait que l'essentiel des signaux qui contribuent au massif E correspondent à des Csp^2 portant un -OH phénolique ou un $-OCH_3$, ce qui n'est évidemment pas le cas, leur proportion ne devrait pas dépasser en moyenne 1 sur 6 dans cet échantillon.

Aucun groupe de signaux ne prend, dans le domaine E, statistiquement plus d'importance que les autres, comme c'était le cas sur les spectres du Podzol et de l'échantillon de surface du sol Andique.

⟶ Les motifs polyhydroxylés ou methoxylés ne doivent prendre qu'une part réduite dans la structure de la composante aromatique de cette fraction.

- Les signaux de la bande $116 < \delta < 136$ ppm sont relativement plus marqués sur ce spectre que sur celui du Podzol.

Le rapport [% F/% D] se situe ici autour de 0,51 à 0,52 contre 0,42 dans ce dernier.

Les $\geqslant$C-COOH (ou R) doivent prendre une part plus marquée dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation de la Rendzine que dans celle du Podzol.

- Les signaux de la bande $132 < \delta < 140$ ppm sont relativement plus marqués que sur le spectre de l'Humine de précipitation du Podzol.

La proportion de Csp^2 participant de liaisons C-C et donc le degré de réticulation du "nucleus" aromatique doivent être plus importants dans l'Humine de précipitation de la Rendzine que dans ce dernier.

N.B. : L'activité biologique étant importante dans ce sol, les composants aromatiques de synthèse microbienne doivent contribuer pour une part notable à la structure des constituants Humiques dans cette fraction.

— Dans l'ensemble des échantillons la proportion moyenne de carbones sp^2 hétérosubstitués est faible -Elle se situe entre 0,8 et 1,5 pour 6 dans l'Humine de précipitation des sols étudiés.

Ceci implique qu'à côté des motifs aromatiques hydroxylés et (ou) méthoxylés, peu modifiés, dérivant de la lignine ou d'autres biopolymères, on doit trouver dans la structure de la composante aromatique de cette fraction une proportion importante de noyaux, protonés ou alkyle substitués ne portant pas d'hétéroatome (directement lié à un C du cycle) mais des groupements -COOH ou esters, et (ou) de motifs polycycliques (aromatiques ou hétéroaromatiques).

Les $\geqslant$C-COOH (ou R) prennent une part variable, mais toujours très marquée dans le schéma fonctionnel.

- Dans le domaine aromatique l'Humine de précipitation présente des caractéristiques très voisines de celles des acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate.

Elle se différentie par contre notablement des acides Humiques de l'extrait sodique.

⟶Le fait que dans deux fractions qui sont extraites par des réactifs différents et après une succession de prétraitements différents, on retrouve un ensemble d'éléments structuraux identiques, constitue un autre indice tendant à confirmer que ces derniers ne doivent pas être édifiés, pour l'essentiel, au moment de l'extraction mais doivent relever d'entités qui préexistent dans l'Humine.

Taux de fonctionalisation

Le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné (les carbohydrates n'étant pas pris en compte) se situe

. entre 33 et 37 % dans l'Humine de précipitation de la Rendzine (en tablant sur une teneur en carbohydrates comprise entre 5 et 7 %).

. entre 30 et 34 % dans l'Humine de précipitation du Podzol (en tablant sur une teneur en carbohydrates de 3 à 5 %).

. entre 27 et 30 % dans l'Humine de précipitation de l'échantillon de surface du sol Andique (en admettant que la teneur en carbohydrate ne dépasse pas 2 %).

. entre 17 et 20 % dans l'Humine de précipitation provenant de l'horizon A_1 de ce même sol (en admettant que la teneur en carbohydrates est négligeable).

- Il ne diffère pas fondamentalement du taux de fonctionalisation oxycarboné moyen de l'Humine.

Dans le cas de la Rendzine et du Podzol il est un peu plus élevé que ce dernier. (La différence est la plus marquée dans le cas du Podzol : 30 à 34 % contre 23 à 27 %).

Dans le cas du sol Andique il est au contraire légèrement plus bas, surtout en A_1.

- Les pourcentages de carbones (oxygénés) participant de groupements carboxyles et amide sont compris :

. entre 43 et 47 % dans l'Humine de précipitation de la Rendzine. (Il se situe entre 47 et 51 % dans l'Humine).

. entre 33 et 37 % dans l'Humine de précipitation du Podzol. (Il est du même ordre que dans l'Humine)

. entre 45 et 48 % dans l'Humine de précipitation de l'échantillon de surface du sol Andique. (Il est légèrement plus élevé que dans l'Humine).

. entre 53 et 58 % dans l'Humine de précipitation provenant de l'horizon A_1 du sol Andique.

— On notera, (dans le cas du sol Andique) que la part que prennent les $-C\overset{=O}{<}$ dans le schéma fonctionnel est plus faible dans l'Humine de précipitation que dans les acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate, où elle est de l'ordre de 60 % en A_o et dépasse 65 % en A_1.

Cette différence doit résulter en grande partie, de ce que la contribution des groupements amide est relativement plus importante dans ces derniers.

+ Sur le spectre de l'Humine de précipitation provenant de l'horizon A_1 du sol Andique (figure 36 b), le groupe de signaux de la bande $169 < \delta < 175$ ppm qui contribuent au pic (-19-), centré autour de 172 ppm, est plus marqué que les autres.

- Ces signaux doivent correspondre, pour l'essentiel, à des groupements -COOH portés par des Csp^2 aromatiques. La part prise par les groupements esters et amide

est relativement réduite dans cet échantillon. (Le C/N dépasse 30 et le pourcentage d'aire du massif de résonances C, auquel contribuent les groupements ester, est inférieur à 5 %).

- La plus grande partie des carbones de type $-C\overset{O}{<}$ liés aux unités structurales aromatiques participent de groupements -COOH. L'épaulement (-18-) que nous attribuons aux signaux des groupements esters, amide et anhydride aromatiques est nettement moins marquée que la bande (-19-).

- L'acidité carboxylique est essentiellement associée aux motifs structuraux aromatiques. Les signaux de la bande $175 < \delta < 180$ ppm que nous attribuons aux -COOH aliphatiques sont nettement moins intenses que ceux de la bande $169 < \delta < 175$ ppm.

- La part prise par les $>C = O$ quinoniques (épaulement -20-) est relativement importante dans cet échantillon. Celle des groupements aldehyde et cetones est négligeable.

+ <u>Sur le spectre de l'Humine de précipitation provenant de l'échantillon de surface de ce même sol</u> (figure 36 b), les signaux de la bande $169 < \delta < 175$ ppm sont encore les plus intenses du domaine F.

Le groupe de signaux de la bande $166 < \delta < 170$ ppm est relativement plus marqué que dans le cas précédent ce qui a pour effet de décaler le maximum (-19-) dans le sens des δ décroissants. Il est ici centré autour de 170 ppm.

Les groupements amide aliphatiques prennent une part plus importante dans le schéma fonctionnel de cet échantillon. (Le rapport C/N est ici de 19,8).

Les signaux correspondant à ces groupements doivent présenter une fréquence de distribution, relativement, plus élevée dans la zone de δ inférieurs à 170 ppm.

Comme sur le spectre précédent les signaux qui contribuent à l'épaulement (-18-) sont sensiblement moins marqués que ceux de la bande $169 < \delta < 175$ ppm.

Une proportion importante des $-C\overset{O}{<}$ carboxyliques liés aux Csp^2 doivent ici encore correspondre à des -COOH.

L'épaulement (-19"-) est un peu plus prononcé que sur le spectre précédent.

La proportion de -COOH associés aux motifs aliphatiques à longue chaine doit être relativement plus élevée ici que dans l'Humine de précipitation provenant de A_1.

La plus grande partie de l'acidité carboxylique reste cependant associée aux unités structurales aromatiques.

Enfin les $>C = O$ quinoniques (épaulement 20) et, surtout les groupements aldehyde (épaulement 21) prennent une part relative beaucoup plus marquée dans le schéma fonctionnel de cet échantillon que dans le cas précédent.

+ <u>Sur le spectre de l'Humine de précipitation de la Rendzine</u>, le pourcentage d'aire du massif F dépasse 15 %.

La proportion de carbones participant de groupements carboxyles et amides

est globalement plus importante dans cet échantillon que dans le sol Andique (% F n'est que de 10 % sur le spectre de l'Humine de précipitation provenant de A_1 et ne dépasse pas 12 % sur le spectre de celle provenant de A_o).

Le C/N est ici de 13,8 et les signaux de la bande $58 < \delta < 80$ ppm sont nettement plus marqués sur ce spectre que sur les précédents.

— Les groupements esters et amide prennent une part beaucoup plus importante dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation de la Rendzine que dans celui de l'Humine de précipitation du sol Andique.

On notera que les signaux de la bande $166 < \delta < 170$ ppm sont ici relativement plus marqués que ceux de la bande $170 < \delta < 175$ ppm.

Le maximum (-19-) est centré autour de 168 ppm (par rapport au spectre de l'échantillon (15-25 cm) du sol Andique il est décalé de 4 ppm dans le sens des δ décroissants).

La part relative que prennent les -COOH liés aux motifs aliphatiques (épaulement -19"-) et les $>$C=O quinoniques (épaulement 20) apparait légèrement moins importante que dans l'échantillon de surface du sol Andique.

Celle des groupements aldehyde (épaulement 21) reste marquée.

+ Sur le spectre de l'Humine de précipitation du Podzol (figure 35a) le massif F présente deux maximas centrés respectivement autour de 167 ppm et de 170 ppm.

Les deux groupes de signaux des bandes $166 < \delta < 169$ ppm et $169 < \delta < 175$ ppm ont en gros la même importance relative.

Le C/N de cet échantillon est de 17,7. La part prise par les groupements amide est plus importante que dans l'échantillon de surface du sol Andique mais plus réduite que dans le cas de la Rendzine.

Celle des -COOH liés aux motifs aliphatiques et celles des $>$C=O quinoniques sont sensiblement moins importantes que dans ces derniers.

La teneur en groupements aldehyde est plus faible que dans l'Humine de précipitation de la Rendzine et de l'échantillon de surface du sol Andique.

Elle reste cependant nettement plus importante que dans celle provenant de l'échantillon (15-25 cm) de ce même sol.

De l'analyse comparative des spectres RMN il ressort que :

- Dans l'Humine de précipitation des quatre échantillons étudiés l'acidité carboxylique est importante -le pourcentage de carbones participant de groupements -COOH doit se situer, suivant le sol, entre 3 et 7 %.
- Cette acidité carboxylique est, pour l'essentiel, associée à la composante aromatique.
- Les -COOH doivent prendre une part relative très importante dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation du sol Andique, surtout en A_1 où la contribution des groupements esters et amide est proportionnellement très réduite.

- Ces derniers prennent une part plus marquée dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation du Podzol et, surtout, de la Rendzine. (où la teneur en azote est pratiquement du même ordre que dans l'Humine).

Une bonne partie de ces groupements sont associés à des motifs structuraux aliphatiques.

Les signaux correspondant à ces groupements présentent apparemment une fréquence de distribution maximale dans la bande $166 < \delta < 170$ ppm alors que ceux des -COOH se concentrent dans la plage de δ supérieurs à 170 ppm.

— La part que prennent les $>C=O$ quinoniques diffère sensiblement d'un sol à l'autre.

Elle est relativement réduite dans l'Humine de précipitation du Podzol.

Dans l'Humine de précipitation du sol Andique où elle apparait particulièrement marquée, elle ne devrait cependant pas dépasser 2 %. (en pourcentage du carbone total, sur la base du pourcentage d'aire du domaine $185 < \delta < 200$ ppm).

- Les groupements aldehyde tiennent une place notable dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation de la Rendzine et de l'échantillon de surface du sol Andique. On estime que 2 à 3 % des carbones doivent ici participer de ces groupements (% d'aire de la bande $195 < \delta < 210$). Leur importance relative est plus réduite dans l'Humine de précipitation du Podzol et pratiquement négligeable dans celle provenant de l'horizon A_1 du sol Andique.

N.B. : Dans l'échantillon de surface du sol Andique la teneur en $-C\overset{O}{<}$ aldehydiques est appréciable dans les acides humiques de l'extrait au pyrophosphate, pratiquement négligeable dans les acides humiques de l'extrait sodique.

- Les $>C-OH$ prennent une part marquée dans le schéma fonctionnel des Humines de précipitation de l'échantillon de surface du sol Andique et du Podzol.

Une fraction notable de l'acidité de cette dernière doit être associée aux -OH phénoliques.

La part de l'acidité phénolique, relativement à l'acidité carboxylique, doit être sensiblement plus faible dans l'Humine de précipitation de la Rendzine et très réduite dans celle provenant de l'horizon A_1 du sol Andique.

Les groupements (esters, ethers et alcool) qui contribuent aux résonances du domaine C prennent relativement plus d'importance dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation du Podzol et de la Rendzine que dans celui de l'Humine de précipitation du sol Andique.

- Sur le spectre du Podzol le groupe de signaux relativement bien marqué qui se détachent du massif de résonances basal entre 68 et 74 ppm doit correspondre à des groupements aryl-alkyl ethers particuliers. Il devrait s'agir ici des ponts α-O-4 qui relient entre eux les unités guaiacyl dans le schéma structural de la lignine.

Composantes aliphatiques

Sur chacun des quatre spectres la bande (-3-) est bien marquée et se détache nettement du massif de résonances basal entre 0 et 40 ppm.

Dans l'ensemble des échantillons étudiés les motifs polyméthylenique peu ou non ramifiés prennent une part marquée dans le schéma structural de cette fraction.

+ Dans le cas de la Rendzine le pourcentage de carbones participant de groupements $-(CH_2)_n-$, dans l'Humine de précipitation, se situe entre 7 et 10 % (en admettant que le pourcentage d'aire du massif A correspondant à ces groupements est de l'ordre de 40 à 50 %).

Le spectre de cette fraction diffère nettement, dans les domaines A et B, aussi bien de celui de l'Humine de départ (figure 22b p.64) que de celui du résidu restant après hydrolyse acide de cette dernière (figure 34 p.114).

La plus grande partie des contituants ou motifs structuraux aliphatiques saturés à longue chaine qui participent de la structure de l'Humine de ce sol se retrouvent dans la fraction de l'Humine de précipitation non soluble en milieu acide.

Sur le spectre IR de la fraction acidosoluble (voir figure 38) le doublet des $-CH_2-$, entre 2930 et 2860 cm^{-1}, est très réduit et mal résolu. Les motifs polyméthyléniques ne passent pratiquement pas dans cette fraction.

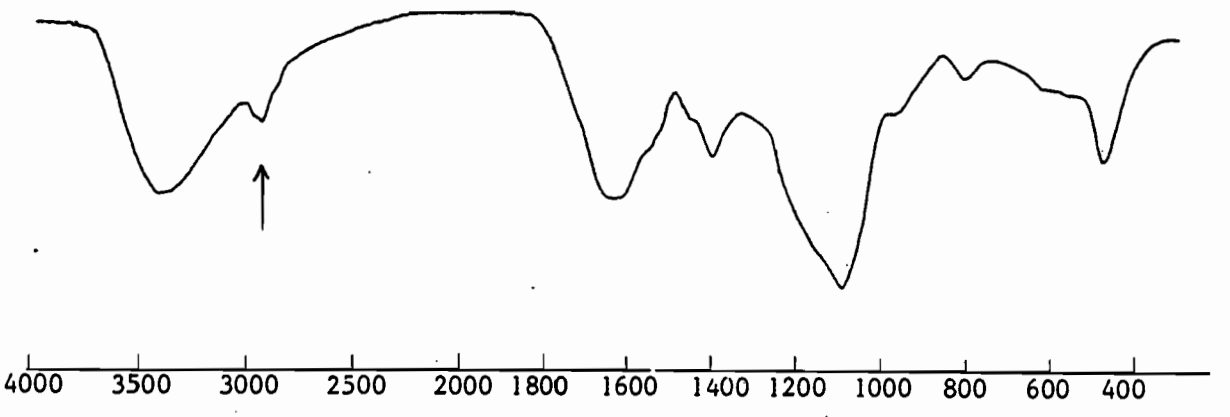


Figure 38 : Rendzine : Humine de précipitation AH1
Fraction acidosoluble

. Sur le spectre RMN du résidu restant après séparation de l'extrait sodique (voir figure) la bande (-3-) est très réduite et ne se différentie pratiquement plus du massif de résonances basal.

+ Dans le cas du Podzol, où ils prennent une part très marquée dans le schéma structural, seule une faible proportion des $-(CH_2)_n-$ de l'Humine se retrouvent dans l'Humine de précipitation.

. On estime que le pourcentage d'aire du massif A qui doit correspondre aux signaux de ces groupements se situe entre 40 et 50 %, sur le spectre du résidu d'hydrolyse acide (figure 33 p.113), comme sur celui de l'Humine de précipitation.

Sur cette base on évalue que 7 à 10 % au plus des carbones du résidu d'hydrolyse acide (et pratiquement, de l'Humine de départ) participant des $-(CH_2)_n-$, ont passé dans la fraction non acidosoluble de l'Humine de précipitation.

La proportion de carbones participant de constituants ou composants structuraux aliphatiques à longue chaine est de l'ordre de 10 à 13 % dans cette dernière.

+ Dans l'échantillon de surface du sol Andique c'est plus de 15 % des $-(CH_2)_n-$ de l'Humine de départ qu'on retrouve dans cette fraction.

La proportion de carbones participant de ces groupements se situe entre 13 et 17 % dans cette dernière.

+ Cette proportion est encore plus élevée dans l'Humine de précipitation de l'échantillon (15-25 cm) où elle dépasse 18 %.

- Schématiquement : la proportion de $-(CH_2)_n-$ de l'Humine qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation est d'autant plus élevée que leur teneur, au départ, est plus réduite et que la part que prend cette fraction dans le "spectre biochimique" du sol considéré est plus importante.

—— On peut se demander si ces groupements

. font partie intégrante du squelette carboné des "macromolécules" Humiques c'est-à-dire correspondent à des chaines latérales, (peu fonctionalisées) greffées sur les unités structurales aromatiques du nucleus, par l'intermédiaire de liaisons C-C, ethers ou esters,

. ou participent de constituants hérités (lipides membranaires)

- adsorbés sur les composés humiques et qui sont extraits avec ces derniers

- ne présentant aucune liaison (physique ou chimique) avec ces composés et qui seraient en quelque sorte "incorporés physiquement" à cette fraction (constituants qui pourraient être partiellement "solubilisés" par la soude 0,1 N et coprécipiteraient avec le matériau humique lors de l'acidification des extraits. Constituants séquestrés dans les espaces lacunaires des micelles humiques).

La même question se pose d'ailleurs dans le cas des acides humiques.

- En soumettant ces fractions à une extraction par des solvants organiques (mélange ethanol-benzène ou acétate d'éthyle-ether de pétrole, par exemple) et en comparant les spectres RMN du résidu et du produit de départ on devrait pouvoir apporter certains éléments de réponse.

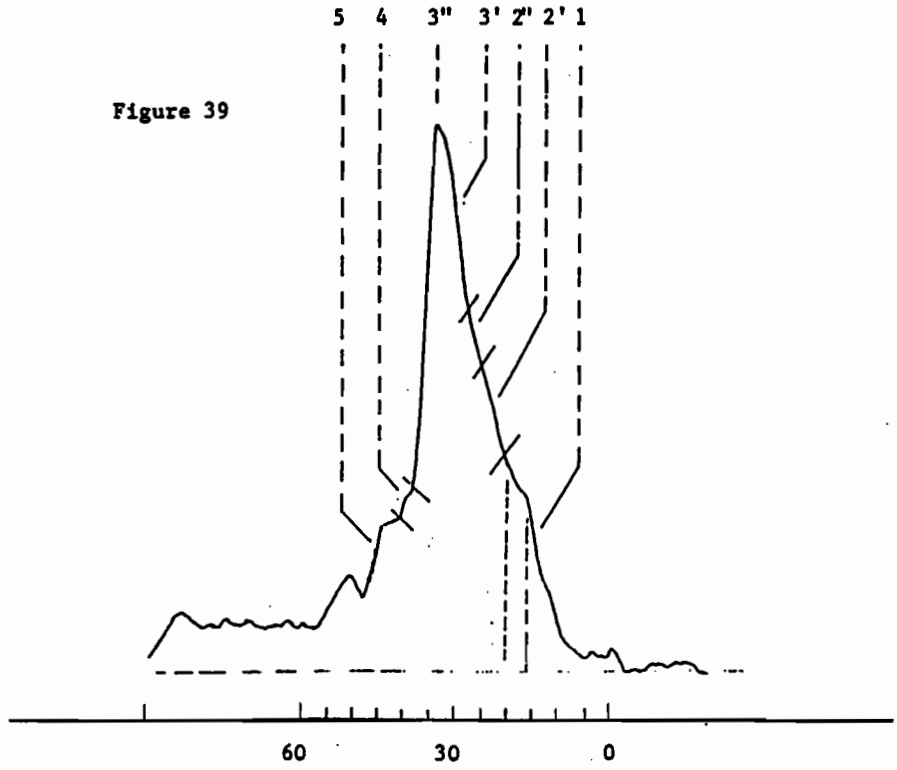
. Les solvants non polaires, même à température relativement élevée, n'affectent pratiquement pas les liaisons covalentes.

Ils sont par contre en mesure de couper les liaisons du type Van der Waals et, partant, d'extraire au moins partiellement les constituants lipidiques adsorbés. (Dans la mesure où ceux-ci ne sont pas soustraits physiquement à l'action du réactif en étant par exemple piégés au sein des espaces lacunaires du "réseau macromoléculaire").

. Si ces constituants ont contracté des liaisons covalentes avec la fraction humique, en d'autres termes si les enchainements polyméthyléniques appartiennent à la structure des macromolécules Humiques ou participent de "complexes" polymoléculaires, ils ne peuvent être séparés qu'à l'aide de réactifs mixtes (NaOH et KOH dans le méthanol, mélange HCl-méthanol).

La figure 39 représente le tracé en échelle expansée (entre 0 et 60 ppm) du spectre de l'Humine de précipitation de l'horizon A_1 du sol Andique (figure 36b).

Figure 39



- Comme sur les spectres (CXP 100) des autres fractions de ce sol, la bande (-3-) se résoud en deux composantes ; (-3'-) centrée autour de 30 à 31 ppm, (-3"-) centrée autour de 34 ppm, moins large que la précédente.

—— Toutes deux doivent correspondre à des motifs répétitifs du type $-(CH_2)_n-$ (avec $n \geqslant 4$) mais dans lesquels le champ magnétique effectif au niveau des noyaux de carbone diffère légèrement.

Cette différence peut résulter de ce que les constituants ou composants structuraux dont ils participent

. ne présentent pas la même conformation ou le même degré de structuration

macroscopique (long range order) -La composante (-3"-) devant ici correspondre aux constituants les mieux "structurés" ou qui présentent la conformation la plus régulière-

. sont différemment liés ou associés aux autres composants ou motifs structuraux (liés chimiquement par liaison covalente, adsorbés à la surface de ces derniers ou simplement séquestrés dans les espaces lacunaires du réseau tridimensionnel amorphe).

N.B. : L'importance relative de ces deux composantes varie significativement d'une fraction à l'autre.

Dans la matière organique fraiche, la composante (-3'-) est relativement plus marquée que la composante (-3"-).

Dans les acides Humiques (NaOH comme pyro) c'est au contraire les signaux qui contribuent à (-3"-) qui sont nettement plus intenses que ceux qui contribuent à (-3'-).

Sur le spectre de la figure 39 la composante (-3"-) a une amplitude à peine plus marquée que la composante (-3'-). (Cette dernière étant plus large, les constituants ou motifs auxquels elle doit être associée prennent en fait une plus grande importance relative.)

Il serait intéressant de voir comment évoluent respectivement ces deux groupes de signaux après actions des solvants organiques.

- Sur le tracé de la figure (39), l'épaulement (-1-) est bien marqué.

A partir du spectre CP-MAS-DD on évalue que près de 7 % des carbones de l'Humine (qui résonnent dans la plage de fréquences des domaines A et B) relèvent ici de groupements $-CH_3$ liés à un groupement méthylène ou méthine.

La proportion des carbones participant de $-CH_3$ terminaux des chaines alkyliques, dont les signaux se situent dans la bande $5 < \delta < 18$ ppm, est inférieur à 2 %. -Elle doit se situer entre 1 et 1,5 %.

Le pourcentage de carbones engagés dans les groupements $-(CH_2)_n-$ se situant entre 18 et 20 % on compte, statistiquement, un $-CH_3$ (terminal) pour 11 à 14 $-CH_2-$.

. L'épaulement (-2'-) qui doit correspondre ici, pour l'essentiel, aux signaux de $-CH_2-$ subterminaux (c'est-à-dire en α du $-CH_3$) des chaines alkyliques est également bien marqué.

. En première analyse, cela pourrait indiquer que les chaines n.alkyliques qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation ne doivent pas comporter, en moyenne plus de 15 C, donc que les constituants lipidiques dont elles forment le squelette ont dû subir une dégradation partielle (oxydation suivie de coupure) avant d'être "incorporées" dans la structure de cette dernière.

En regard de la diversité des configurations dont doivent participer les $-(CH_2)_n-$, et qui se traduit par la complexité de la bande (-3-), le rapport $|CH_3|/|CH_2|$ moyen n'a en fait que peu de signification.

Ainsi on peut envisager ici qu'à côté des motifs paraffiniques à longue chaine peu ou non ramifiés dans lesquels ce rapport est nettement inférieur à 1/15, on trouve une proportion élevée de motifs à chaine relativement courte, plus ramifiés et présentant une plus grande diversité de configurations et conformations.

Les premiers correspondraient à des acides gras et alcools à longue chaine ou à leurs esters (cires), vraisemblablement adsorbés en surface des micelles Humiques et, dans une moindre mesure, des minéraux argileux (la bande (-3-) bien marqué sur le spectre de la figure 38 doit correspondre en grande partie aux $-(CH_2)_n-$ de lipides à chaine longue adsorbés sur ces derniers) et contribueraient à la composante (-3"-).

Les seconds qui contribuent essentiellement à la composante (-3'-) pourraient correspondre soit à des chaines latérales (peu fonctionalisées) des macromolécules Humiques, soit à des composés aliphatiques linéaires de plus faible poids moléculaire piégés dans les espaces lacunaires des micelles Humiques.

- Seule une proportion relativement réduite de ces enchainements methyléniques doivent ici comporter un -COOH terminal.

. L'épaulement (-2'-), auquel contribuent, entre autres, les signaux des $-CH_2-$ en β d'un tel groupement est ici relativement peu marqué.

. L'épaulement (-4-) est également très réduit et seule une partie des signaux de la bande $35 < \delta < 40$ ppm correspondent ici à des $-CH_2-$ en α d'un -COOH. Sur le spectre qu'on relève après déphasage dipolaire les signaux résiduels sont encore bien marqués dans cette bande de δ, ce qui indique qu'une proportion notable des signaux contribuant à cet épaulement doivent être associés à des C quaternaires.

. Enfin les signaux de la bande $175 < \delta < 180$ que nous attribuons à ces -COOH sont relativement peu marqués.

- Le pourcentage d'aire de la bande (-5-), $40 < \delta < 50$ ppm à laquelle contribuent les signaux des $-CH_2-$ et $-\overset{|}{C}H-$ pontants (entre noyaux aromatiques) ne dépasse pas 3 % sur le spectre de cet échantillon.

Les ponts qui relient entre elles les unités structurales aromatiques du "nucleus" doivent être ici surtout du type $>C-C<$ et C-O-C ou, éventuellement, $-(CH_2)_n-$.

+ <u>Sur le spectre de l'échantillon de surface du sol Andique</u> (figure 36a) les deux composantes de la bande (-3-) ne sont plus différentiées (ce spectre a été obtenu à partir du CXP 90).

Par référence au maximum (-14-) du massif D, cette bande est ici nettement plus marquée que sur le spectre précédent, ce qui indique que dans cet échantillon

. soit les chaines paraffiniques comportent, en moyenne, un nombre de C plus élevé que dans l'Humine de précipitation provenant de A_1 (donc qu'au cours de l'évolution une dégradation de ces dernières doit intervenir).

. soit, plus généralement, que la part prise par les $-(CH_2)_n-$, n pouvant prendre des valeurs très variables, est globalement plus importante en A_0 qu'en A_1.

Les motifs de type isoprenoïde doivent prendre une part non négligeable dans le schéma structural. Une partie des signaux qui contribuent respectivement à l'épaulement (-4-) et à l'épaulement (-2'-) ainsi que le groupe de signaux relativement intenses qui contribuent à l'épaulement (-1-), entre 17 et 20 ppm, peuvent être associés aux C de ces motifs.

+ Sur le spectre de l'Humine de précipitation du Podzol les épaulements (-1-) (-2'-) et (-2"-) se démarquent nettement du massif de résonances A.

Relativement à la bande (-3-), les signaux des $-CH_3$ terminaux (bande $0 < \delta < 16$ ppm) et le groupe de signaux de la bande $16 < \delta < 20$ ppm (qui sont en partie pris en compte ici avec l'épaulement (-2'-)) sont sensiblement plus marqués que sur le spectre précédent.

La part que prennent les motifs polyméthyléniques à chaine relativement courte partiellement ramifiés ($-CH_3$ en iso) et les motifs de type isoprenoïde doit être plus importante dans l'Humine de précipitation de ce sol que dans celle du sol Andique.

+ Sur le spectre de l'Humine de précipitation de la Rendzine les épaulements (-1-) et (-2'-) sont relativement moins marqués que sur l'ensemble des spectres précédents.

Les groupements $-(CH_2)_n-$ qui contribuent à la bande (-3-) doivent ici participer surtout de motifs non ramifiés à nombre de C élevés.

L'épaulement (-4-), bien marqué, indique qu'il doit s'agir en grande partie d'acides gras et d'esters à longue chaine.

Dans le domaine aliphatique (composants aliphatique du squelette carboné) les caractéristiques structurales de l'Humine de précipitation se rapprochent d'avantage de celles des acides Humiques de l'extrait sodiqueque de celles des acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate.

Dans ces derniers, la part que prennent les motifs polyméthyléniques peu ou non ramifiés, relativement aux motifs fortement ramifiés et (ou) polycycliques saturés est sensiblement plus réduite que dans les acides Humiques NaOH et dans l'Humine de précipitation.

La différence devient moins marquée au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la surface, comme on peut s'en rendre compte en comparant les spectres IR de ces trois fractions extraites d'échantillons prélevés à différents niveaux du profil du sol Andique (figure 40).

Les motifs $-(CH_2)_n-$, à n élevé, peu ou non ramifiés prennent une part relative

croissante dans le schéma structural des acides Humiques pyro au fur et à mesure que le degré d'évolution augmente.

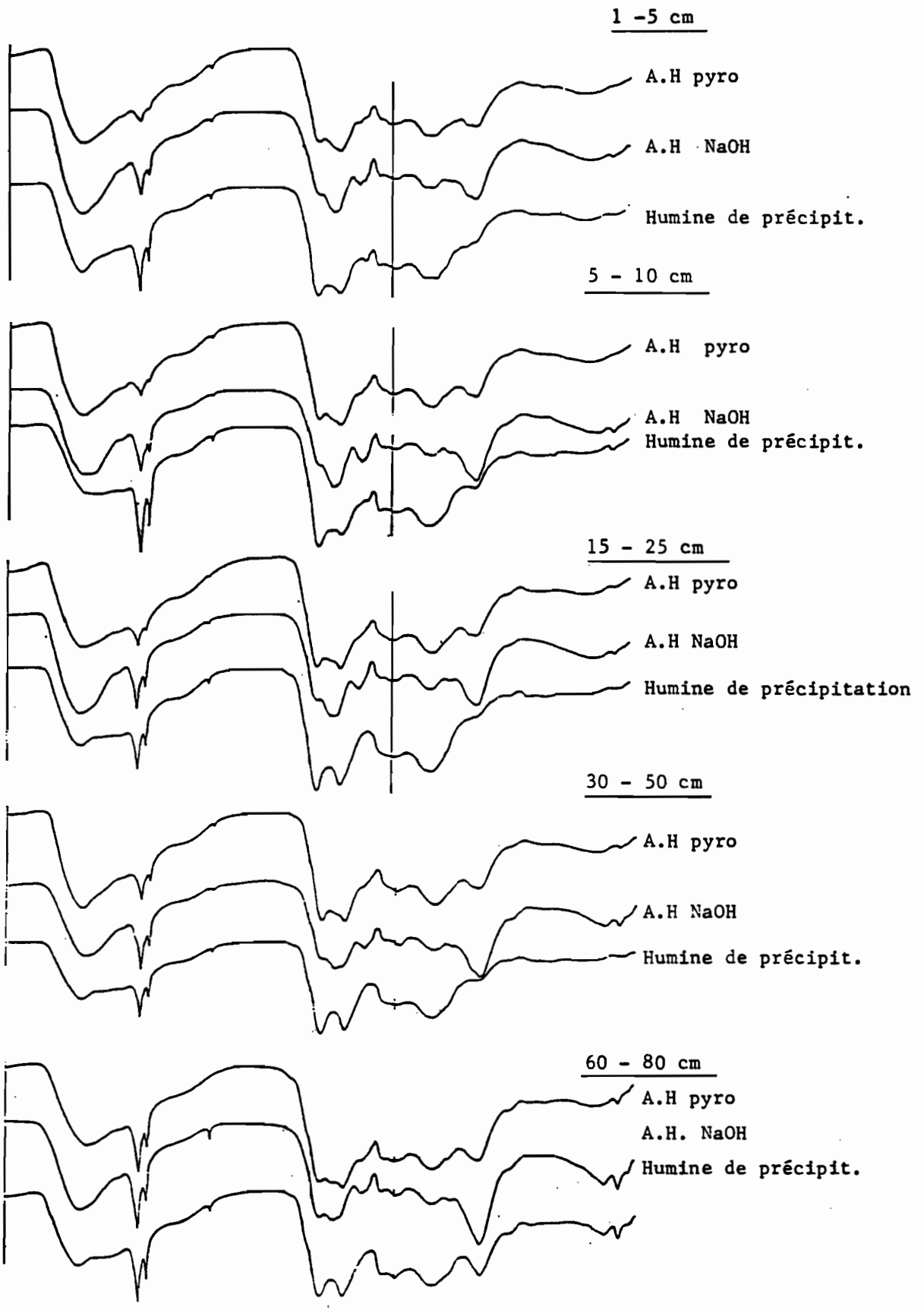


Figure 40 : Sol Andique MORVAN

En résumé

Les Humines de précipitations des trois sols étudiés présentent un ensemble de caractéristiques structurales communes alors que la composition radicalaire de l'Humine diffère notablement d'un sol à l'autre.

1- Les carbones sp^2 prennent une part très importante dans la structure de cette fraction.

Leur proportion se situe entre 38 et 42 % (en % du C total, les carbohydrates n'étant pas pris en compte) dans l'Humine de précipitation du Podzol, de la Rendzine et de l'échantillon de surface du sol Andique.

Dans ce dernier elle augmente significativement quand on s'éloigne de la surface. En A_1 (15-25 cm) elle dépasse 46 %.

Dans tous les cas le "taux d'aromaticité" de cette fraction est supérieur au "taux d'aromaticité" moyen de l'Humine.

- L'essentiel de ces carbones relèvent d'entités structurales qui préexistent dans l'Humine. La proportion d'unités ou de motifs aromatiques qui sont néoformés lors de l'extraction ou de la purification des extraits doit être relativement réduite.

- Sur l'ensemble des spectres de cette fraction les signaux de la bande $122 < \delta < 132$ ppm sont nettement plus marqués que les autres groupe de signaux des domaines D et E.

Une bonne partie de ces signaux correspondent à des carbones sp^2 de type quaternaire.

. carbones portant un groupement -COOH, ester ou amide ($\geqslant$ C-CO-NH)

. carbones sp^2 participant de motifs polycycliques (aromatiques, hétéroaromatiques ou hétérocycliques).

Les groupements $\geqslant$ C-COOH (ou R) prennent une part très importante dans le schéma fonctionnel de cette fraction.

Dans le domaine des Csp^2, les spectres de l'Humine de précipitation ont la même allure que ceux des acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate. Les caractéristiques structurales de la composante aromatique doivent être très voisines dans ces deux fractions.

Ils diffèrent par contre sensiblement de ceux des acides Humiques de l'extrait sodique (dont le "taux d'aromaticité" est nettement plus faible).

- Les différences qu'on relève d'un sol à l'autre résident

. dans l'importance relative et la distribution des autre substituants hétéroatomiques (-OH et $-OCH_3$ notamment)

. dans la part que doivent prendre les unités structurales dérivant de la lignine et, surtout, dans l'importance des transformations qu'elles doivent subir avant d'être intégrées dans la structure des "macromolécules" Humiques

. dans le degré de réticulation du "nucleus aromatique").

- Dans l'Humine de précipitation du Podzol, de la Rendzine et de l'échantillon de surface du sol Andique on retrouve une proportion non négligeable de groupements aryl-méthoxyl.

Dans le sol Andique leur teneur diminue significativement quand on s'éloigne de la surface.

Ces groupements prennent également une part marquée dans le schéma fonctionnel des acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate alors que leur importance relative est nettement plus réduite dans celui des acides Humiques de l'extrait sodique.

Dans les acides Humiques, comme dans l'Humine de précipitation, leur teneur diminue quand on s'éloigne de la surface.

. On considère généralement [3,83] que les groupements $-OCH_3$ qu'on retrouve dans les composés Humiques, sont associés, pour l'essentiel, à des unités structurales dérivant de la lignine.

Une des premières modifications que subit cette dernière lors de la lignolyse fongique est une coupure oxydative de ces groupements [120, 126, 127].

⟶ On doit donc envisager que des éléments structuraux de la lignine peuvent être intégrés dans la structure des "macromolécules" Humiques à un stade relativement précose du processus de biodégradation avant d'avoir subi une déméthylation notable.

Cette dernière intervenant ultérieurement au cours de l'évolution du matériau Humique.

- Tel doit être le cas dans le Podzol où l'empreinte des configurations O-disubstituées du type guaiacyl est encore nettement décelable sur le spectre de l'Humine de précipitation.

Il est possible que, dans ce sol où la ligninolyse est très lente, des fragments de coupure peu altérés (ensembles d'unités guaiacyl encore reliées par des ponts ether (liaisons β-O-4) ou C-C) soient incorporées dans l'édifice réticulaire des composés Humiques.

- On retrouve l'empreinte des motifs guaiacyl sur le spectre de l'échantillon de surface du sol Andique. Ces motifs prennent, ici, une part relative nettement moins importante dans la structure de l'Humine de précipitation que dans le cas précédent.

Dans ce sol les produits de coupure provenant de la lignine doivent subir des transformations plus marquées avant d'être intégrées dans la structure du matériau Humique. Les ponts ether (β-O-4) qui relient les unités guaiacyl entre elles doivent en grande partie, être coupés et les chaines propyliques remplacées par des -COOH (oxydation de la fonction alcool portée par le Cα).

- Dans la Rendzine les unités aromatiques dérivant de la lignine sont surtout du type syringyle.

L'empreinte de ces motifs ($-OCH_3$, -OH)1,2,3 substitués est peu marquée sur le

spectre de l'Humine de précipitation de ce sol.

Ils ne doivent prendre qu'une part très réduite dans la structure de cette dernière ou sont fortement modifiés (en particulier demethylées) avant d'être intégrées à celle-ci.

- Dans le Podzol aux éléments structuraux provenant de la lignine se trouvent associés des motifs polyhydroxylés ou polyhétérocycliques oxygénés (comme en témoignent les signaux, relativement marqués, de la bande $95 < \delta < 114$ ppm) qui doivent dériver d'autres constituants. Il pourrait s'agir de tannins catéchiques, éventuellement associés à des constituants azotés [128, 129] qui seraient ici incorporés à la structure du matériau Humique. (Ceci expliquerait que le rapport C/N de cette fraction soit nettement plus faible que celui du résidu d'hydrolyse dont elle est extraite, 17,7 contre 41).

Dans le sol Andique, où l'activité biologique est plus importante, ces motifs ne prennent qu'une part négligeable dans la structure de l'Humine de précipitation.

- Dans tous les cas la proportion moyenne des carbones sp^2 hétérosubstitués est inférieure à 2 pour 6.

Ceci implique qu'à côté des motifs hydroxylés et méthoxylés dérivant de la lignine, ou d'autres biopolymères, des noyaux protonés ou alkyle substitués, carboxylés ou polycarboxylés mais ne portant pas d'hétéroatome (directement lié à un carbone du cycle), des motifs polycycliques aromatiques ou hétéroaromatiques ou encore des motifs oléfiniques doivent entrer dans la structure des constituants de cette fraction.

— Ces motifs prennent une part relative nettement plus importante dans l'Humine de précipitation de la Rendzine et du sol Andique que dans celle du Podzol.

Dans le sol Andique et, surtout, dans la Rendzine des produits aromatiques dérivant de la biomasse microbienne entrent, pour une proportion appréciable, dans la structure du matériau Humique.

On peut donc envisager qu'une partie de ces motifs aromatiques carboxylés ou polycarboxylés et (ou) polycycliques relèvent de ces constituants de synthèse microbienne.

- Le degré de réticulation du "nucleus aromatiques" est sensiblement plus réduit dans l'Humine de précipitation du Podzol que dans celle de la Rendzine et du sol Andique.

Dans ce dernier il augmente significativement quand on s'éloigne de la surface c'est-à-dire avec le degré d'évolution du matériau Humique.

2 - Le "taux de fonctionalisation oxycarboné" de l'Humine de précipitation n'est pas fondamentalement différent du "taux de fonctionalisation oxycarboné moyen" de l'Humine.

Dans l'échantillon de surface du sol Andique, il est du même ordre que dans les acides Humiques.

Dans l'Humine de précipitation de la Rendzine et du Podzol la proportion des carbones participant de groupements oxycarbonés est significativement plus élevée que dans le résidu d'hydrolyse dont elle est extraite.

⟶ Il ne semble donc pas que les traitements acides aient réduit de façon importante la fonctionalisation des composants structuraux de cette fraction.

Ce taux est un peu plus élevé dans la Rendzine et le Podzol que dans le sol Andique.

Dans ce dernier il diminue significativement quand on s'éloigne de la surface. (Il passe de 27 à 30 % en A_0 à 17 à 19 % en A_1).

L'évolution semble donc se traduire, du moins dans ce sol, par une réduction de la fonctionalisation des constituants Humiques.

- La distribution des divers types de groupements oxycarbonés varie notablement d'un échantillon à l'autre.

La proportion de carbones oxygénés participant de groupements carboxyles et amide va de 33 à 37 % dans l'Humine de précipitation du Podzol, à plus de 50 % dans celle provenant de l'horizon A_1 du sol Andique.

- On évalue que l'acidité carboxylique doit se situer entre 3 et 6 % (en % du C total) dans l'Humine de précipitation des trois sols.

Elle est maximale dans celle provenant de l'horizon A_1 du sol Andique, nettement plus réduite dans celle du Podzol où l'acidité phénolique est relativement élevée.

Ces -COOH sont pour l'essentiel associés aux unités structurales aromatiques.

L'acidité carboxylique liée aux composants aliphatiques est sensiblement plus réduite, surtout dans l'Humine de précipitation du Podzol.

⟶ Dans l'échantillon de surface du sol Andique les caractéristiques fonctionnelles de l'Humine de précipitation sont voisines de celles des acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate. (Ces derniers comportent une proportion un peu plus élevé de groupements amide).

- Les groupements amide prennent une part nettement plus importante dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation du Podzol, et, surtout, dans la Rendzine dans laquelle la teneur en azote est particulièrement élevée (C/N ≃ 13,8).

Une grande partie de ces groupements relèvent de motifs structuraux aliphatiques. Il doit s'agir ici de chaines peptidiques (chaines latérales du schéma de Martin et al [51]).

- Dans le cas du Podzol l'acide concentré chaud a "solubilisé" une grande partie de l'azote peptidique de l'Humine.

Les chaines peptidiques qui participent de la structure de l'Humine de précipitation ne semblent par contre pas avoir été affectées notablement.

Il faut donc envisager que, dans les micelles Humiques elles sont, en grande partie, soustraites à l'action hydrolylique de l'acide.

Ceci implique que ces entités "polymoléculaires" ne sont pas édifiées de

toutes pièces lors du fractionnement, à partir d'unités ou de composants structuraux qui seraient passés en solution et subiraient une polycondensation en milieu alcalin, mais doivent préexister dans l'Humine.

La situation doit être la même dans l'Humine de précipitation de la Rendzine et du sol Andique.

L'évolution qu'on observe dans ce dernier entre l'échantillon de surface et celui provenant de l'horizon A_1 doit être essentiellement le reflet de la minéralisation secondaire de l'azote dans les consituants humiques.

- Les groupements ether et -OH (alcooliques) prennent une part relativement marquée dans le schéma fonctionnel de l'Humine de précipitation du Podzol.

Le groupe de signaux qui se détache du massif de résonances basal dans la bande $68 < \delta < 72$ ppm doit correspondre aux $\gg$CH-O des groupements alkyl-aryl ether qui relient entre elles les unités guaiacyl dans les motifs structuraux dérivant de la lignine (liaison β-O-4).

L'empreinte des signaux caractéristiquent des unités glucopyranose de la cellulose est encore nettement décelable, dans le domaine C, sur le spectre de cette fraction (de 3 à 5 % des carbones de cette dernière doivent participer de ces motifs).

Dans ce sol il semble donc qu'à côté des constituants néoformés une proportion non négligeable de fragments de coupure, peu altérés, dérivant des constituants hérités doivent être incorporés au matériau Humique.

- Les carbohydrates ne participent plus que dans une proportion négligeable à la structure de l'Humine de précipitation du sol Andique.

Les groupements oxycarbonés qui contribuent aux résonances du domaine C prennent une part nettement plus réduite dans le schéma fonctionnel de cette dernière que dans le Podzol (moins de 30 % dans l'échantillon de surface, pas plus de 15 % dans l'échantillon provenant de A_1).

Il doit s'agir pour l'essentiel de groupements esters et alkyl ether.

Les signaux que nous avons attribués aux groupements aryl-alkyl ether de la lignine (liaisons β-O-4) sont ici très peu marqués.

- Les motifs polysaccharidiques jouent, par contre, un rôle non négligeable dans la structure de l'Humine de précipitation de la Rendzine (de l'ordre de 5 à 7 % des carbones participentici de ces unités).

Il doit s'agir ici en grande partie de composants dérivant de la biomasse microbienne, vraisemblablement liés aux unités structurales aromatiques par l'intermédiaire de ponts glyrosidiques ($\gg$C-O-R).

3 - Dans les trois sols les enchainements methyléniques prennent une part marquée dans le schéma structural de l'Humine de précipitation, ou, plus exactement de la

fraction qu'on sépare par floculation en milieu acide (pH 2).

Dans la fraction acidosoluble de l'extrait AH 1 on ne retrouve que des motifs à chaine très courte ou fortement ramifiée.

- Les pourcentages de carbones participant de groupements polymethyléniques sont assez voisins dans les Humines de précipitation des trois sols alors qu'ils diffèrent fortement, d'un sol à l'autre, dans l'Humine.

- La proportion des $-(CH_2)_n-$ de l'Humine qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation est d'autant plus élevée que

. la part que prend cette fraction dans le "spectre biochimique" de l'Humine est plus marquée,

. l'importance relative de ces groupements dans le schéma structural de cette dernière est plus réduite.

Dans le cas de la Rendzine elle est supérieure à 90 % alors que dans le cas du Podzol elle n'atteint pas 10 %.

- Ces groupements relèvent de deux types de constituants ou composants structuraux dont les δ diffèrent de 3 à 4 ppm et qui doivent se différentier

soit par leur configurations ou leurs degrés de structuration macroscopiques

soit par leur mode de liaison ou d'association avec les autres composants dans les entités "polymoléculaires" que sont les micelles (c'est-à-dire par la nature et l'importance des interactions que subissent les carbones correspondants de la part des molécules ou atomes et groupements d'atomes voisins).

- Nous ne sommes pas en mesure, avec les éléments dont nous disposons pour le moment de préciser si ces $-(CH_2)_n-$, ou du moins une partie d'entre eux

. participent effectivement de la structure des "macromolécules" Humiques où ils correspondraient, à des chaines latérales, peu fonctionalisées qui pourraient contribuer à la réticulation, comme c'est le cas dans la matière organique des sédiments (Kerogènes) [130]

. relèvent, pour l'essentiel, de constituants hérités qui seraient adsorbés à la surface des constituants Humiques ou simplement associés à ces derniers (c'est-à-dire auraient coprécipité avec eux ou seraient séquestrés dans les espaces lacunaires de l'édifice réticulaire).

Une étude complémentaire associant la RMN et des extractions par des solvants organiques devrait permettre de lever en partie l'indétermination.

- Dans le domaine aliphatique (domaine A) les caractéristiques de l'Humine de précipitation se rapprochent d'avantage de celles des acides Humiques de l'extrait sodique que de celles des acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate.

Comme dans les acides Humiques NaOH les motifs polymethyléniques à longue chaine, peu ou non ramifiée prennent une part marquée dans le schéma structural de cette fraction alors que dans les acides Humiques pyro elle est nettement plus réduite, relativement à celle des motifs à chaine courte, des motifs fortement

ramifiés et (ou) polycycliques saturés

On peut se demander si les différences qu'on relève, dans ce domaine, entre l'Humine de précipitation et les acides Humiques pyro correspondent bien à une différence au niveau de la structure des "macromolécules" Humiques, alors que les caractéristiques de la composante aromatique et la composition fonctionnelle sont très voisines dans ces deux fractions.

La réponse à cette question dépend de celle qui sera apportée à la précédente.

Si les groupements polyméthyléniques qu'on retrouve dans les fractions Humiques relevaient, pour l'essentiel, de constituants hérités simplement associés aux composés néoformés la différence pouvait résulter du fait que le taux d'extraction de ces constituants, par la soude 0,1 N à pH 12 et par le pyrophophate 0,1 M à pH 10 n'est pas le même.

Dans cette hypothèse les caractéristiques structurales des macromolécules Humiques qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation ne différeraient pas sensiblement de celles qui entrent dans la constitution des acides Humiques pyro.

Elles se rapprocheraient de celle du modèle proposé par Schnitzer [131] (ensemble d'unités structurales aromatiques polycarboxylées liées entre elles par des ponts H) à la différence que les noyaux aromatiques ne portent pas ici que des -COOH mais également d'autres groupements hétéroaromatiques et qu'ils ne sont pas simplement reliés entre eux par des ponts H mais par des liaisons covalentes du type C-C ou C-O-C.

III Humine résiduelle

Sous ce terme nous désignons le résidu non extractible par les réactifs minéraux.

Les proportions du carbone de l'Humine qu'on retrouve dans cette fraction sont respectivement

. de 49,8 % dans le cas de l'échantillon de surface du sol Andique

. de 56,1 % dans le cas de l'échantillon provenant de l'horizon A_1 (15-25 cm) de ce même sol

. de 49,9 % dans le cas du Podzol

. de 20 à 24 % dans le cas de la Rendzine.

N.B. : Dans le cas du Podzol et de la Rendzine nous n'avons pu relever que le spectre du résidu restant après séparation de l'Humine de précipitation AH1.

Moins de 5 % du carbone organique total de ce résidu sont extraits lors de l'hydrolyse fluorhydrique (mélange HF + HCl) et du traitement sodique (NaOH 0,1 N) qui suivent et se retrouvent dans l'Humine de précipitation AH2.

Ses caractéristiques structurales ne devraient donc pas différer notablement de celles de l'Humine résiduelle proprement dite.

Les spectres de l'Humine résiduelle des deux échantillons du sol Andique sont représentés sur les figures (41 a et b).

Ceux du résidu restant après séparation de l'Humine de précipitation AH1, du Podzol et de la Rendzine sont représentés sur les figures (42 a et b).

Carbohydrates

+ Sur le spectre de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique, le pourcentage d'aire du domaine C est de l'ordre de 7 %.

La bande des carbones anomériques ne se différencie pas du massif D. Le pourcentage d'aire de la bande $92 < \delta < 105$ ppm est inférieur à 1 %.

—— La teneur en carbohydrates doit être nettement inférieure à 5 % (en pourcentage du C total) dans cet échantillon .

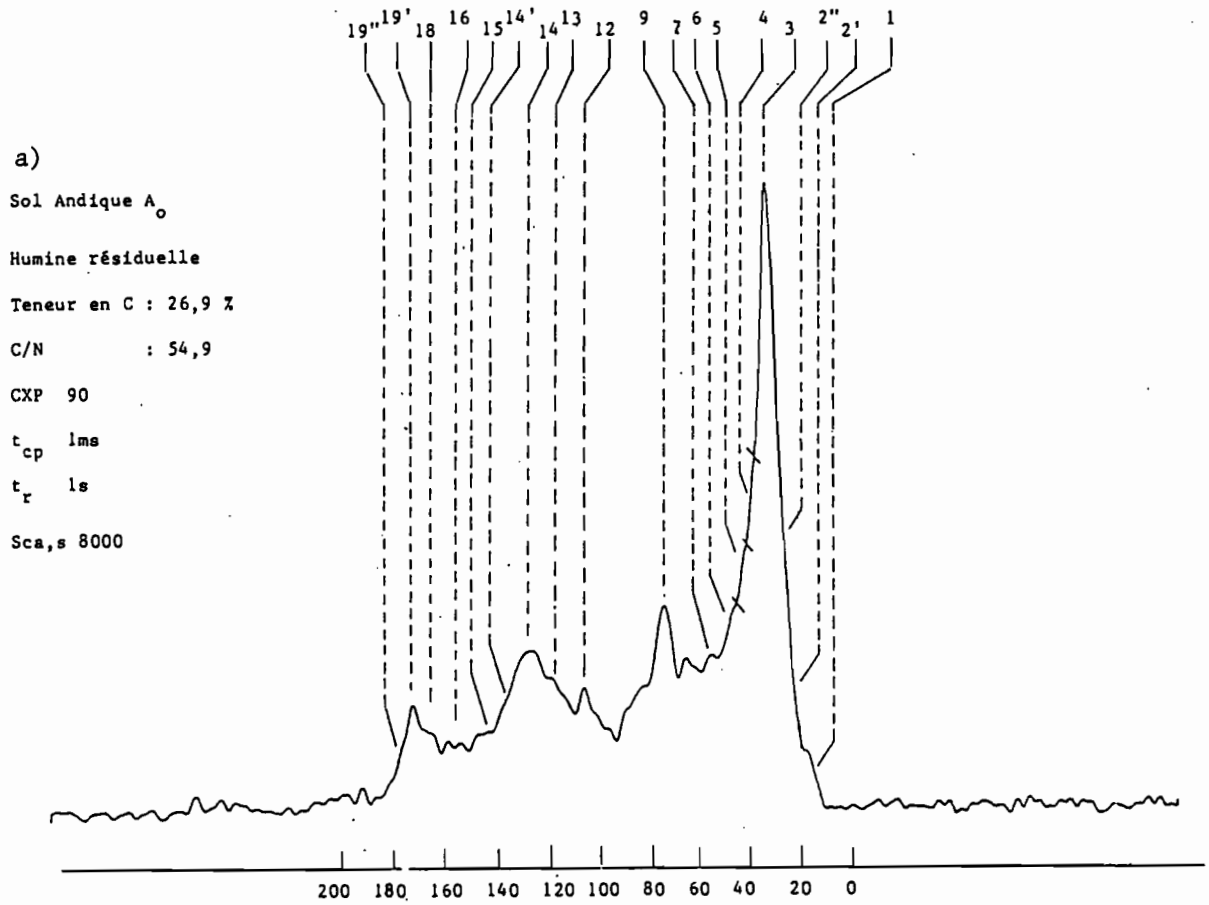
+ Sur le spectre de l'Humine résiduelle de l'échantillon de surface (A_0) de ce sol

. La bande des carbones anomériques se détache nettement du massif D

. Le pourcentage d'aire global du massif C est de 17 à 18 %. On estime que les signaux des groupements $-CH_2OH$, $>CHOH$ et $>CH-O-C$ (C_2 à $_6$ des cycles gluopyranose) y contribuent pour 30 à 35 %.

—— La teneur en polysaccharides doit donc se situer dans cet échantillon entre 5 et 7 % (en pourcentage du C total).

De l'ordre de 12 à 17 % des carbohydrates de l'Humine se retrouvent dans cette fraction.


19" 19' 18 16 15 14' 14 13 12 9 7 6 5 4 3 2" 2' 1
a)
Sol Andique A_o
Humine résiduelle
Teneur en C : 26,9 %
C/N : 54,9
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Sca,s 8000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

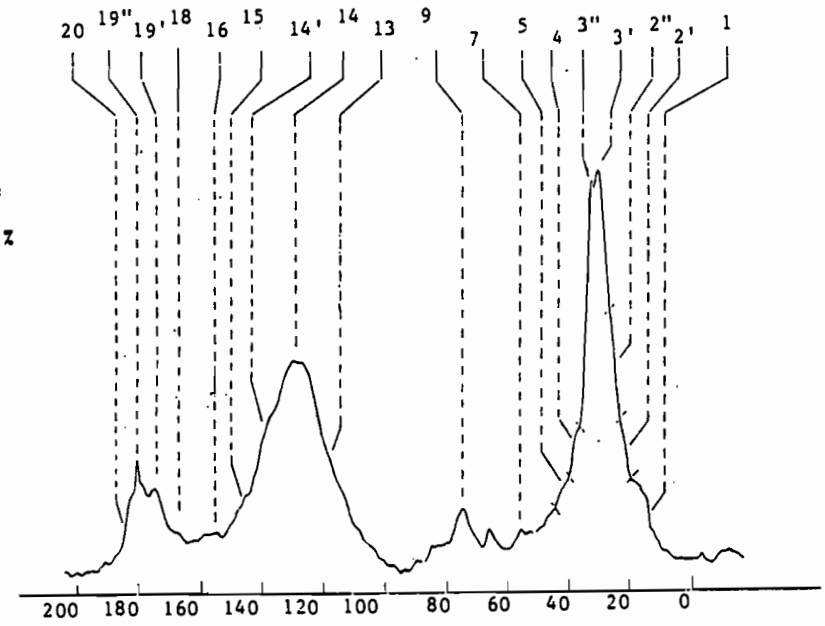
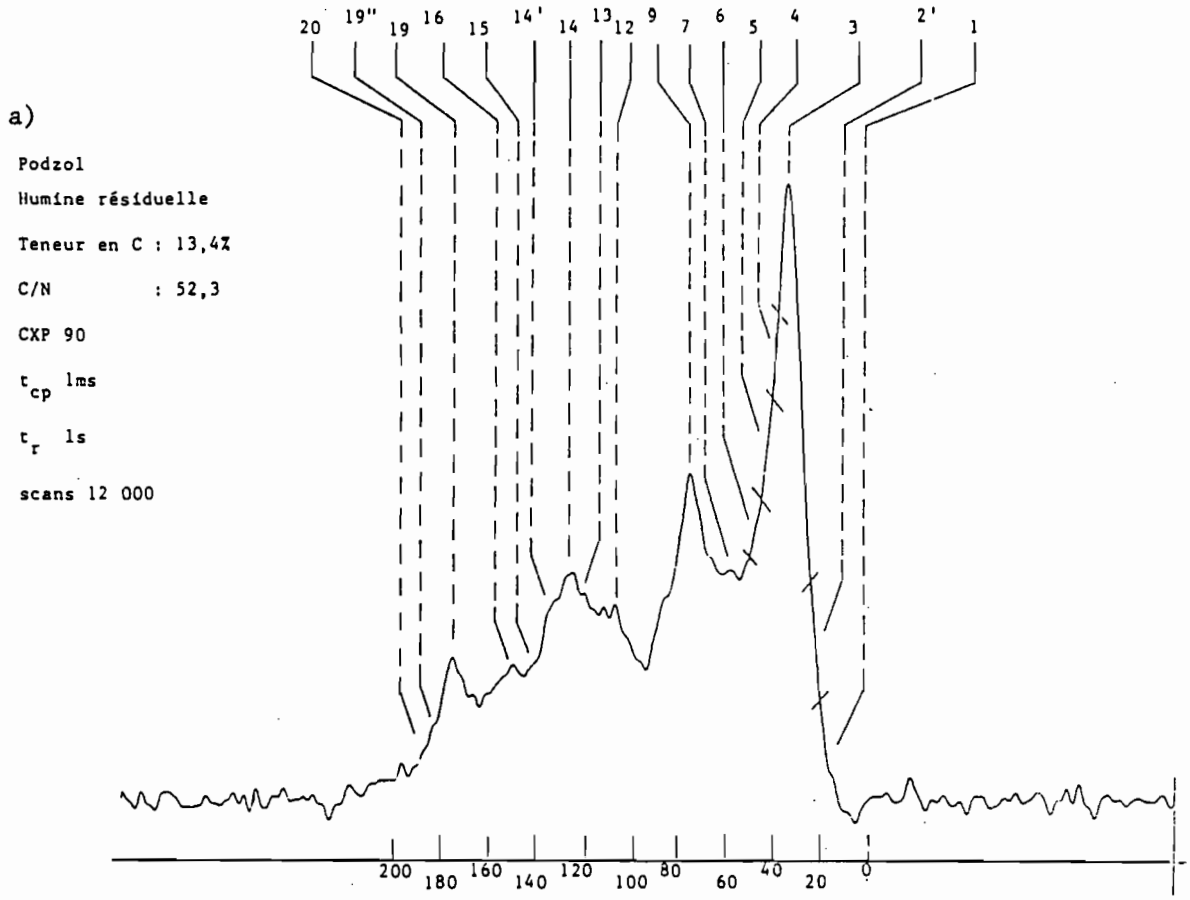

20 19" 19' 18 16 15 14' 14 13 9 7 5 4 3" 3' 2" 2' 1
b)
Sol Andique A_1
Humine résiduelle
Teneur en C 15,8 %
C/N 53,9
CXP 100
t_{cp} 3ms
t^r 1ms
Scans 8000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 41


a)
Podzol
Humine résiduelle
Teneur en C : 13,4%
C/N : 52,3
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
scans 12 000
20 19" 19 16 15 14' 14 13 12 9 7 6 5 4 3 2' 1
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

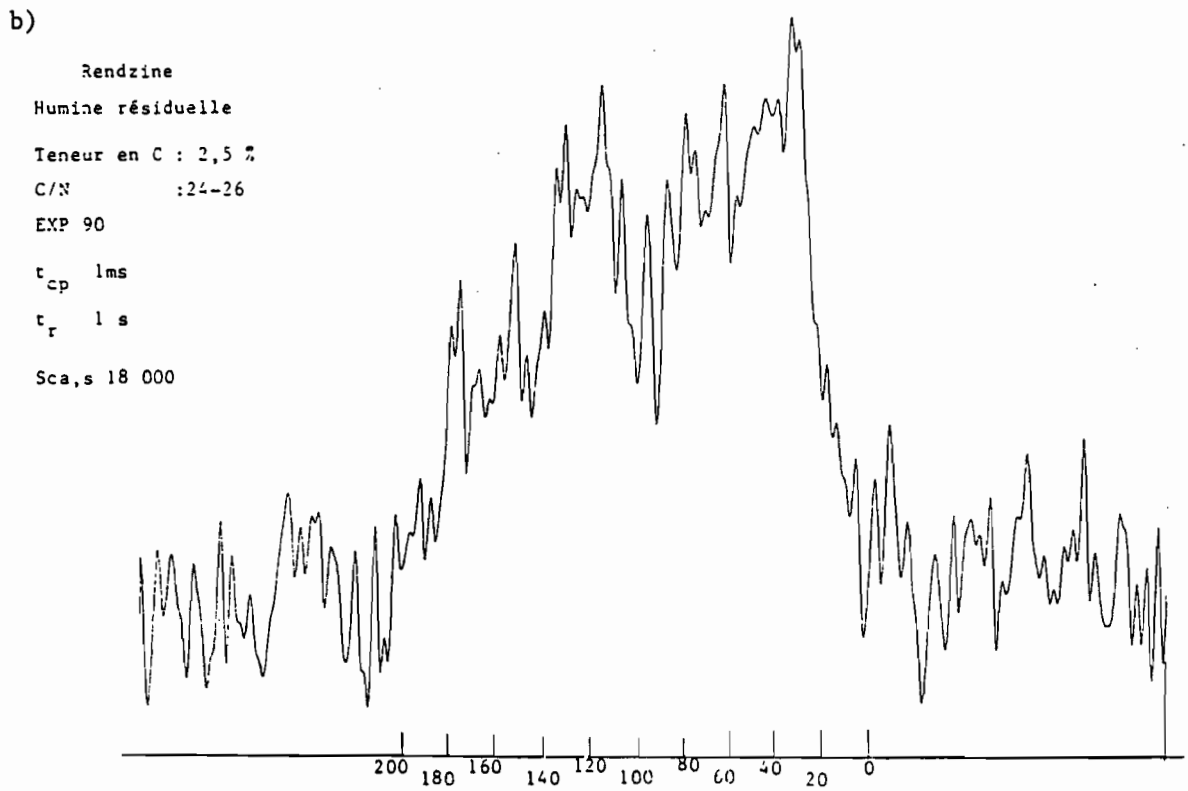

b)
Rendzine
Humine résiduelle
Teneur en C : 2,5 %
C/N :24-26
EXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1 s
Sca,s 18 000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 42

Il doit s'agir, pour l'essentiel, de cellulose présentant un certain degré d'organisation (microfibrilles). La bande (-9-), centrée autour de 75 ppm est étroite et bien définie.

+ Sur le spectre de l'Humine résiduelle du Podzol

. Le pourcentage d'aire du massif C est de l'ordre de 20 %

. Si on compare ce spectre au précédent et à celui du résidu qui reste après hydrolyse HCl (figure 33 p.118).

- la bande des carbones anomériques est légèrement plus marquée que sur le premier mais se détache nettement moins du massif D que sur le second.

- la bande (-12-) est ici plus large que sur ces deux spectres et complexe.

—— La teneur en carbohydrates doit se situer, dans cette fraction entre 6 et 9 %.

Dans cette hypothèse

. de 13 à 16 % des carbohydrates de l'Humine se retrouvent dans le résidu qui reste après séparation de l'Humine de précipitation AH1

. la soude 0,1 N a extrait de l'ordre de 45 à 55 % des polysaccharides restant après hydrolyse acide. Ils se retrouvent essentiellement dans la fraction acido soluble de l'Humine de précipitation.

+ Dans l'Humine de précipitation de la Rendzine la teneur en carbone ne dépasse pas 2,5 %. Le rapport signal/bruit est trop bas pour qu'il soit encore possible de tirer des indications d'ordre quantitatif de ce spectre.

Composants aromatiques et oléfiniques : La proportion de carbones sp^2 aromatiques ou oléfiniques, protonés, alkyle substitués ou hétérosubstitués, [% E + % D] est

. de l'ordre de 41 % dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique

. de l'ordre de 28 à 29 % dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_0 du sol Andique

. de l'ordre de 32 % dans l'Humine résiduelle du Podzol

. De l'ordre de 30 à 35 % dans l'Humine résiduelle de la Rendzine.

Si les carbohydrates ne sont pas pris en compte elle se situe respectivement

. entre 41 et 42 % dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique

Elle est légèrement plus élevée que dans l'Humine

. entre 29 et 31 % dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_0 du sol Andique

Elle est nettement plus faible que dans l'Humine (où elle est > 37 %)

. entre 33 et 35 % dans l'Humine résiduelle du Podzol

Elle est légèrement plus élevée que dans l'Humine

. au dessus de 35 % dans l'Humine résiduelle de la Rendzine

Elle est nettement plus élevée que dans l'Humine.

La composition structurale de la fraction aromatique diffère sensiblement d'un échantillon à l'autre.

Sur la figure 43 nous comparons le spectre de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique à ceux

. de la matière organique fraiche -éléments figurés (radicelles et fragments de racines pour une grande part) qu'on sépare par densimétrie.

L'empreinte de la lignine est bien marquée sur ce spectre [groupe de signaux de la bande $145 < \delta < 155$ ppm contribuant au massif (-16-) et qui correspondent aux Csp^2 des groupements phénol, aryl-methoxyls et aryl-alkyl ether et groupe de signaux contribuant à l'épaulement (-13-) et qui correspondent aux Csp^2 protonés en ortho et para de ces groupements]

. de l'Humine de précipitation.

Dans cette dernière une grande partie des carbones sp^2 participent des unités aromatiques du nucleus des macromolécules Humiques. La part des constituants (aromatiques) hérités doit être relativement réduite. On peut considérer en quelque sorte que sur le spectre de cette fraction, dans les domaines D et E, on retrouve essentiellement l'empreinte structurale des composés néoformés.

- Les spectres de l'Humine de précipitation et de l'Humine résiduelle présentent la même forme, dans les domaines D et E ($92 < \delta < 160$ ppm).

Les caractéristiques structurales de la composante aromatique sont très voisines dans ces deux fractions.

La lignine héritée ne doit prendre qu'une part très réduite dans le "spectre biochimique" de l'Humine résiduelle de ce sol, relativement aux composants structuraux néoformés et(ou) fortement transformées de l'Humine d'insolubilisation

- Entre 63 et 65 % des carbones qui résonnent dans la plage de fréquence des domaines D et E sont de type quaternaire. Moins de 20 % portent un hétéroatome.

La proportion de carbones sp^2 hétérosubstitués (autres que ceux des groupements quinoïdes) ne dépasse pas 10 à 13 %. Si on admet qu'une grande partie de ces carbones sont de type aromatique, moins de 1C par cycle, en moyenne, (soit 0,6 à 0,8 pour 6) est directement lié à un atome d'oxygène.

- Plus de la moitié des carbones sp^2 de cette fraction (soit 54 à 56 %)

. participent de liaisons C-C ($\geqslant$C-C$\leqslant$, $\geqslant$C-CH_2-C$\leqslant$, $\geqslant$C-$(CH_2)_n$-C$\leqslant$, $\geqslant$C-CH-C$\leqslant$) ou de motifs polyaromatiques (carbones communs à deux cycles adjacents).

. ou sont alkyle substitués (par des groupements $-CH_3$, $-CH_2R$, -CHR, R')

. ou portent un groupement -COOH, carboxylate ou ester.

— Les signaux de la bande $112 < \delta < 118$ ppm qui contribuent à l'épaulement (-13-) peuvent être associés

. à des carbones sp^2 protonés en ortho d'un C hétérosubstitué [$\geqslant$C-OH, $\geqslant$C-O-R (ou R peut être soit un groupement alkyle soit un noyau aromatique), $\geqslant$C-NH- ou $\geqslant$C=N-]

. à des carbones sp^2 de type quaternaire : carbones aromatiques portant un groupement -COOH, carboxylate, ester, $-CH_2COOH$ (ou R) ou aldehyde en ortho d'un C hétérosubstitué, carbones alkyle substitués ou participant de liaisons $\geqslant$C-C$\leqslant$ en ortho et para de carbones hétérosubstitués.

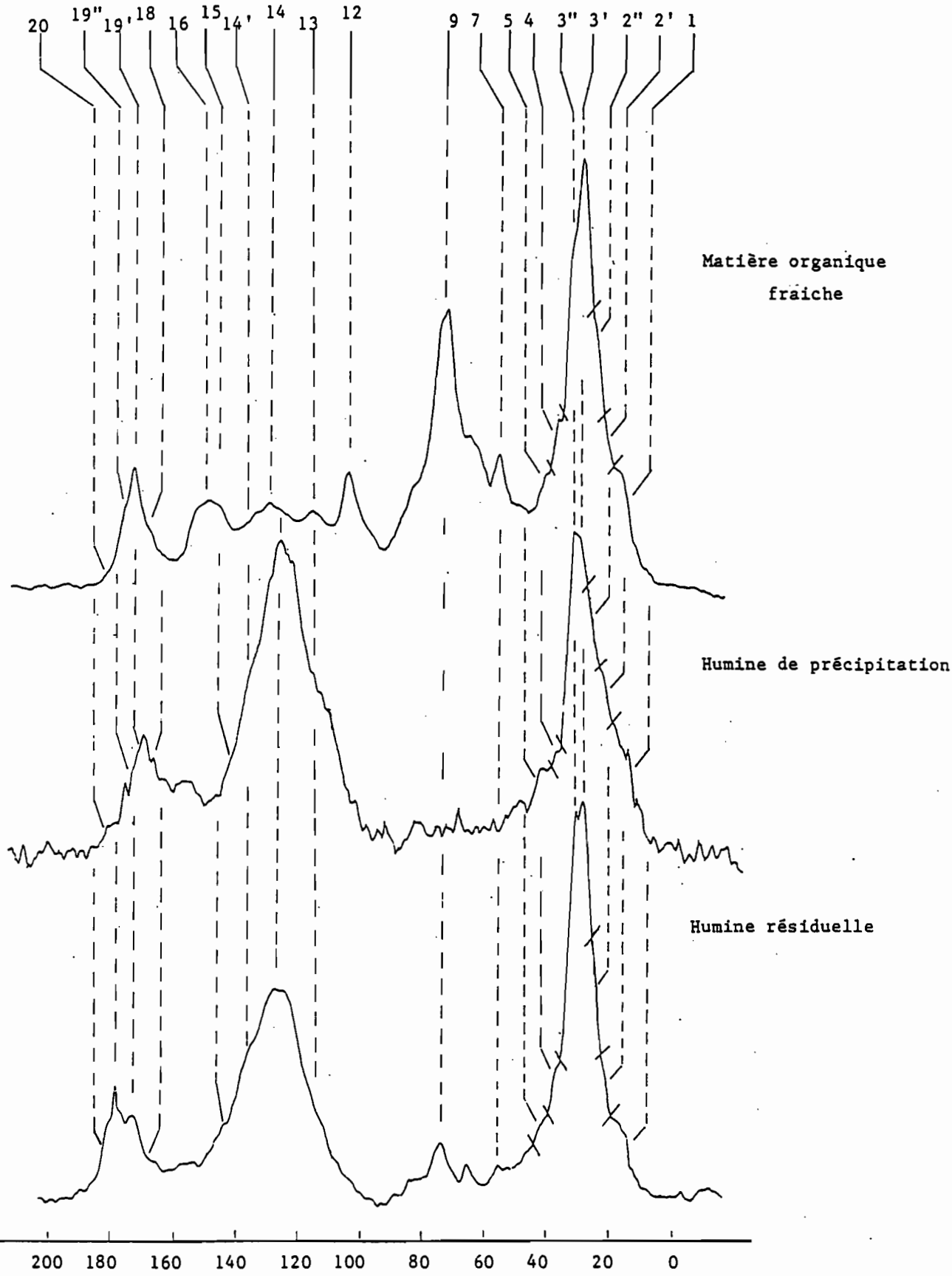


Figure 43 : Sol Andique A_1 (CXP 100)

Une fraction notable de l'aire de cette bande correspond ici aux signaux de carbones de ce type.

- Les signaux de la bande 122 < δ < 134 ppm qui contribuent au maximum (-14-) correspondent

. à des carbones sp^2 protonés en ortho et para de C eux mêmes protonés ou alkyle substitués ou en para d'un C hétérosubstitué

. à des carbones sp^2 de type quaternaire (plus de la moitié de l'aire du massif D, dans cette bande de δ correspond à des carbones de ce type) : carbones aromatiques portant un groupement -COOH, carboxylate, esters, CH_2COOH (ou R) en ortho et para d'un C protoné ou alkyle substitué (zone des δ > 130 ppm) ou en para d'un carbone hétérosubstitué (zone des δ < 130 ppm), carbones aromatiques alkyle substitués ou participant de liaisons ≫C-C≪ et de motifs polyaromatiques en ortho d'un C hétérosubstitué.

—— Les carbones sp^2 de type quaternaire qui résonnent dans la plage 92 < δ < 134 ppm représentent entre 10 et 13 % du C organique total.

La proportion de carbones participant de groupements -COOH, carboxylate ou esters portés par des noyaux aromatiques n'atteignant pas 5 %, il doit s'agir, pour plus de la moitié, de carbones participant de liaisons C-C et de motifs polyaromatiques, ou de Csp^2 alkyle substitués en position ortho ou ortho et para (δ < 120 ppm) de carbones hétérosubstitués.

- Les signaux de la bande 134 < δ < 141 ppm, qui contribuent à l'épaulement (-14'-) correspondent, pour l'essentiel, à des Csp^2 de type quaternaire.

. Carbones aromatiques alkyle substitués : portant un groupement $-CH_3$ (l'épaulement (-2'-) relativement marqué sur le spectre obtenu après déphasage dipolaire indique que les ≫C-CH_3 doivent prendre une part non négligeable dans le schéma structural) ou une chaine alkylique latérale.

. carbones aromatiques reliés par des ponts $-CH_2)$ ou $-(CH_2)_n-$ ou par une liaison ≫C-C≪

. en ortho et para de C protonés ou eux mêmes alkyle substitués ou en para d'un C hétérosubstitué (δ < 138 ppm).

. carbones sp^2 portant un groupement carboxylate (-COONa : Le spectre ESCA confirme que cet échantillon contient des teneurs notables de Na).

- Les signaux de la bande 140 < δ < 146 ppm, qui contribuent à l'épaulement (-15-) peuvent être associés

. à des ≫C-OH en position ortho (noyaux O-disubstitués)

. à des carbones aromatiques participant de liaisons C-C ou reliés par des ponts $-CH_2-$, -CH-, -NH- ou =N-, en ortho et para de C protonés ou alkyle substitués. Ces derniers doivent ici prendre une part prépondérante.

Cet épaulement, ainsi que l'épaulement (-14'-) sont plus marqués, relativement, sur le spectre de l'Humine résiduelle que sur celui de l'Humine de précipitation.

Le degré de condensation et de réticulation du nucleus des "macromolécules" Humiques doit être sensiblement plus important dans la première.

Cette différence mise à part, la composante aromatique présente des caractéristiques structurales identiques dans les deux "formes" d'Humine.

+ Dans le Podzol où l'activité biologique est faible les processus d'héritage-transformation jouent un rôle prédominent [28].

La lignine héritée devrait prendre une part prépondérante dans le schéma structural de la fraction aromatique de l'Humine résiduelle de ce sol.

En comparant le spectre de cette dernière à celui de la matière organique fraiche (figure 43) et aux spectres de la lignine (figure 8 p. 23) on peut obtenir des indications sur la nature des transformations que cette dernière a subi dans le sol.

- Sur le spectre de l'Humine résiduelle, dans le domaine E, les signaux de la bande $155 < \delta < 162$ ppm sont nettement plus marqués, relativement à ceux de la bande $144 < \delta < 155$ ppm, que sur celui de la matière organique fraiche.

Ces signaux peuvent être associés, en grande partie, aux Csp^2 participant de liaisons aryl-alkyl ether ($\geqslant$C-O-CH$<$).

Le rapport de l'amplitude moyenne de ces signaux à l'amplitude moyenne des signaux de la bande $124 < \delta < 132$ ppm (signaux les plus intenses du domaine D contribuant au maximum (-14-)) se situe entre 0,50 et 0,55 sur le spectre de l'Humine résiduelle du Podzol, autour de 0,3 seulement sur le spectre de la matière organique fraiche. Sur le spectre de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 il ne dépasse pas 0,15.

——>Dans la lignine héritée les ponts $\geqslant$C-O-CH$<$ qui relient les noyaux aromatiques doivent être en grande partie conservés.

Une partie des signaux qui contribuent au massif C entre 68 et 74 ppm peuvent être assignés aux -CH$<$ de ces groupements.

- Dans la lignine les Csp^2 participant de ces ponts ether se trouvent pour la plupart en position orhto d'un carbone hétérosubstitué, $\geqslant$C-OCH_3 le plus souvent (voir tableau TIII schéma f).

Leur δ est donc inférieur à 155 ppm. Sur le spectre de la matière organique fraiche ils contribuent au massif (-16-).

- Sur le spectre de l'Humine résiduelle du Podzol les signaux correspondant aux $-CH_3$ des groupements aryl-methoxyl (bande (-7-)) se démarquent à peine du massif de résonances basal.

——>La lignine héritée qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation a du subir une demethoxylation marquée.

- Si ces $-OCH_3$ étaient surtout remplacés par des -OH phénoliques la forme du spectre de l'Humine résiduelle ne devrait pas différer sensiblement de celle du spectre de la matière organique fraiche, dans le domaine E -l'effet blindant des $-OCH_3$

et des -OH sur le carbone en ortho est, à 2 ppm près, du même ordre-

Les signaux de la bande 145 < δ < 155 ppm devraient rester les plus marqués.

- Si par contre à la place de la liaison méthoxyl ether apparait une liaison C-C ou si le groupement $-OCH_3$ est remplacé par un carboxyle, les signaux des Csp^2 participant des ponts ether $\geqslant$C-O-CH$<$ sont décalés, de 8 à 12 ppm, dans le sens des δ croissants. Ce qui se traduit par un "effacement relatif" du massif (-16-) et un renforcement des signaux de la bande 155 < δ < 162 ppm.

- La substitution des $-OCH_3$ par des groupements carboxyles doit se traduire au niveau du spectre par une réduction de l'aire du massif E (réduction du taux moyen d'hétérosubstitution) et un accroissement correspondant de l'aire du massif D) dans la bande 122 < δ < 127 ppm.

—> L'évolution qu'on observe, dans les domaines E et D sur le spectre de l'Humine résiduelle, par rapport à celui de la matière organique fraiche, indique que dans la lignine héritée, les groupements aryl methoxyls doivent être remplacés en partie par les groupements qu'exercent un effet déblindant sur le carbone sp^2 de la liaison $\geqslant$C-O-CH$<$ en ortho, donc par des groupements autres qu'hydroxyles.

- Les pourritures brunes qui jouent un rôle prédominant dans les Mor oxyderaient les groupements methoxyles en carboxyles [28].

Les indices qui se dégagent de l'analyse et de la comparaison des spectres de l'Humine résiduelle de ce sol, de la matière organique fraiche et des lignines vont dans le sens de cette hypothèse.

— Le taux d'hétérosubstitution moyen des Csp^2 se situe entre 1,4 et 1,6 pour 6 dans l'Humine résiduelle, entre 2,2 et 2,4 pour 6 dans la matière organique fraiche.

Si cette différence résultait, pour l'essentiel, du remplacement des $-OCH_3$ par des -COOH(ou R) la proportion des Csp^2 portant un tel groupement devrait, dans l'Humine résiduelle, se situer entre 0,7 et 0,9 pour 6. En d'autres termes de l'ordre de 3 à 5 % du carbone organique total de cette dernière devrait participer de groupements carboyxles associés aux unités structurales aromatiques de la lignine héritée.

La teneur globale en -COOH(ou R) aromatiques et aliphatiques ne dépasse pas 6 % (en pourcentage du C total) dans cet échantillon.

Il est peu vraisemblable que plus de la moitié de ces groupements résultent uniquement de l'oxydation des groupements aryl-methoxyls de la lignine.

- D'autres transformations ontdû intervenir.

. Les signaux de la bande 132 < δ < 137 ppm contribuant à l'épaulement (-14'-) ainsi que ceux de la bande 138 < δ < 143 ppm contribuant à l'épaulement (-15-) sont plus marqués sur le spectre de l'Humine résiduelle que sur celui de la matière organique fraiche.

Ces signaux correspondent, pour l'essentiel, à des Csp^2 participant de liaisons C-C pontantes ou portant un groupement alkyle, en para de C hétérosubstitués (épaulement -14'-) ou en ortho et para de C protonés ou alkyle substitués (épaulement -15-).

N.B. : Une partie des signaux contribuant au maximum (-14-) entre 122 et 132 ppm doivent correspondre à des C de ce type en ortho de C hétérosubstitués.

——> Le degré de réticulation des composants aromatiques est nettement plus élevé dans l'Humine résiduelle que dans la matière organique fraiche.

Ceci implique

- soit que des constituants aromatiques non apparentés à la lignine ou des constituants néoformés du type de ceux qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation sont liés ou associés à la lignine (ce qui a pour effet de les rendre inextractibles par la soude diluée).

- soit que de nouvelles liaisons C-C apparaissent entre les unités structurales aromatiques de la lignine

. à la place de liaisons ether ($>$C-O-CH$<$ et $>$C-OCH_3) qui peuvent subir une hydrolyse partielle dans les conditions de pH relativement bas qui prévalent dans le Mor.

. entre Csp^2 non substitués.

En d'autres termes que le degré de réticulation de la lignine elle même augmente.

Ainsi, sans passer préalablement par une phase de dépolymérisation, par démethoxylation, réduction progressive du taux d'hétérosubstitution et accroissement de la réticulation la structure de la lignine héritée se rapprocherait peu à peu de celle du nucleus des macromolécules Humiques.

+ Le spectre de l'Humine résiduelle de l'échantillon de surface du sol Andique présente, dans les domaines D et E un certain nombre d'analogies avec celui de l'Humine résiduelle du Podzol.

- La lignine héritée partiellement transformée doit encore prendre une part non négligeable dans le schéma structural de l'Humine de cet échantillon.

- Le taux d'hétérosubstitution moyen des carbones sp^2 est sensiblement plus faible ici que dans l'Humine résiduelle du Podzol. Il se situe autour de 1 pour 6.

La proportion de Csp^2 protonés, alkyle substitués ou participant de liaisons C-C pontantes est plus élevée que dans cette dernière.

Le degré de réticulation des composants aromatiques doit être un peu plus important dans cet échantillon.

Taux de fonctionalisation - Composition fonctionnelle.

Le pourcentage de carbones participant de groupements oxygénés (les carbohydrates n'étaient pas pris en compte) varie fortement d'un échantillon à l'autre

. dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique il se situe entre 17 et 19 %

. il est nettement plus élevé dans l'Humine résiduelle de l'échantillon de surface (A_0) où il se situe entre 24 et 26 %

. dans "l'Humine résiduelle" du Podzol il est de l'ordre de 28 à 30 %

. dans le cas de la Rendzine il ne peut être évalué.

- La distribution des divers types de groupements oxycarbonés diffère notablement d'un échantillon à l'autre.

+ Dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique près de la moitié de ces groupements sont des carboxyles. La contribution des groupements amide est négligeable -Le rapport C/N est supérieur à 50-

- Près de 75 % de l'aire du massif F se situe dans la bande $170 < \delta < 185$ ppm.

- Les -COOH prennent une part prépondérante dans le schéma fonctionnel.

On estime que de l'ordre de 4 à 6 % du carbone organique total participent ici de ces groupements.

. Une part importante de l'acidité carboxylique doit être associée aux unités structurales aromatiques. Les signaux correspondant à ces groupements contribuent au maximum (-19'-) centré autour de 173 ppm.

. La proportion des -COOH associés aux motifs aliphatiques doit être sensiblement plus élevée que dans l'Humine de précipitation. Les signaux correspondant à ces groupements (qui présentent une fréquence de distribution maximale dans la bande $175 < \delta < 185$ ppm) contribuent pour une part notable à la composante (-19"-), bien marquée sur ce spectre.

Par contre les groupements esters aliphatiques ou aromatiques (signaux de la bande $160 < \delta < 170$ ppm) prennent une part nettement plus réduite dans le schéma fonctionnel de l'Humine résiduelle que dans celui de l'Humine de précipitation.

- On notera enfin l'importance que prennent ici les groupements quinoïdes dont les signaux contribuent à l'épaulement 20 et, pour partie, à l'épaulement (-19"-).

- La proportion de groupements oxygénés, autres que carboxyles, associés aux unités structurales aromatiques ne dépasse pas 25 %.

La part que prennent les groupements aryl-methoxyl étant très réduite il doit s'agir

. en grande partie d'hydroxyles phénoliques

On estime que la proportion de carbones participant des groupements $\geqslant$C-OH doit se situer entre 1 et 3 % (en pourcentage du C total).

. pour au moins 25 à 30 % de groupements ether : aryl alkyl ether et $\geqslant$ C-O-C$\leqslant$

- Les groupements hétéroaromatiques ne doivent pas être distribués de façon uniforme entre les différents cycles.

. Le fait que des carbones sp^2 participant de liaisons C-C contribuent aux résonances de la plage $112 < \delta < 134$ ppm indique que certains cycles portent au moins deux groupements hétéroaromatiques (autres que carboxyles).

Comme la proportion moyenne des carbones sp^2 hétérosubstitués est ici inférieure à 1 pour 6, ceci implique qu'une partie des cycles ne doivent porter aucun hétéroatome -Cycles participant de motifs polycondensés ou fortement réticulés-

+ Dans l'Humine résiduelle de l'échantillon de surface (A_0) du sol Andique les groupements carboxyles prennent une part sensiblement moins importante dans le schéma fonctionnel qu'en A_1 -28 à 30 % contre plus de 50 % (les carbohydrates n'étant pas pris en compte)-

Comme en A_1 la contribution des groupements amide est négligeable (Le rapport C/N est encore supérieur à 50).

Les signaux de la bande $158 < \delta < 170$ ppm correspondent, pour l'essentiel, à des groupements esters (aromatiques et aliphatiques).

Ces derniers prennent ici plus d'importance que dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1.

- La proportion de carbones participant de groupements -COOH doit se situer entre 2 et 4 % (en pourcentage du C total).

L'acidité carboxylique est en grande partie liée aux composants aromatiques (signaux de la bande $170 < \delta < 175$ ppm contribuant au maximum (-19'-).

⟶ Dans l'Humine résiduelle comme dans l'Humine de précipitation et dans les acides Humiques de l'extrait au pyrophosphate l'acidité carboxylique augmente significativement quand on s'éloigne de la surface, c'est-à-dire avec le degré d'évolution.

- La proportion de groupements oxycarbonés, autres que carboxyles, liés aux unités structurales aromatiques (-OH phénoliques, ethers) est légèrement plus faible que dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1.

Ceci est essentiellement dû au fait que le "taux d'aromaticité" est nettement plus élevé en A_1. Le taux d'hétérosubstitution moyen des Csp^2 se situe entre 1 et 1,2 pour 6 en A_0. Contre seulement 0,6 à 0,8 pour 6 en A_1.

La proportion de carbones participant de groupements $\geqslant$C-OH doit être inférieur à 3 % (en pourcentage du C total).

- La différence la plus marquée qu'on relève dans la composition fonctionnelle de cette fraction entre l'échantillon provenant de l'horizon A_1 et l'échantillon de surface réside dans la part que prennent les groupements -OH, esters et ethers aliphatiques (dont les signaux contribuent au massif C).

Elle dépasse 50 % en A_0 alors qu'en A_1 elle n'atteint pas 30 %.

La proportion de carbones participant de ces groupements se situe entre 9 et 12 % (en pourcentage du C total) en A_0, en A_1 elle est inférieure à 8 %.

Le fait que le taux de fonctionalisation soit significativement plus élevé dans la première résulte en grande partie de là.

+ Dans l'Humine résiduelle du Podzol la part des groupements carboxyles dans le schéma fonctionnel se situe entre 28 et 32 % (la contribution des groupements amide étant négligeable).

Elle est du même ordre que dans l'échantillon de surface du sol Andique mais, en pourcentage du carbone total, l'acidité carboxylique est ici plus élevé que dans ce dernier -Le pourcentage de C participant des groupements -COOH (aliphatiques et aromatiques) doit se situer entre 4 et 6 %-

— L'acidité carboxylique associée aux composants aliphatiques est proportionnellement plus élevée que dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_0 du sol Andique.

. Le maximum du massif F est ici centré autour de 175 ppm. Les signaux de la bande $175 < \delta < 182$ ppm sont plus marqués, relativement à ceux de la bande $170<\delta<175$ ppm sur ce spectre que sur le précédent.

On doit retrouver une proportion plus importante de chaines alkyliques carboxylées dans l'Humine résiduelle du Podzol.

- La proportion de groupements oxycarbonés , autres que carboxyles, portés par des Csp^2 aromatiques est de l'ordre de 22 à 25 % comme dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique. Mais ici le taux d'hétérosubstitution moyen des carbones sp^2 est nettement plus élevé que dans cette dernière (1,4 à 1,6 pour 6 contre 0,6 à 0,8 pour 6).

Il doit s'agir, pour plus de moitié, d'OH phénoliques -Le maximum (-16-) du massif E est centré autour de 149 ppm- (les groupements aryl-methoxyl ne prennent qu'une part relativement négligeable dans le schéma fonctionnel).

La proportion de carbones participant de ces groupements doit se situer ici entre 3 et 4 % (en pourcentage du C total).

- La part des groupements -OH, esters et ether aliphatiques dans le schéma fonctionnel se situe ici entre 45 et 48 %.

De l'ordre de 12 à 15 % du carbone organique total de cette fraction participe de ces groupements. Cette proportion est la même que dans l'Humine résiduelle de l'échantillon de surface du sol Andique.

Composants aliphatiques du squelette carboné

+ Sur le spectre (CXP 100) de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique.

- Les bandes (-3'-) centrée autour de 29 ppm et (-3"-), centrée autour de 34 ppm, caractéristiques des groupements $-(CH_2)_n-$ ($n > 4$) sont bien marquées et se détachent nettement du massif de résonances basal.

La fraction d'aire du massif A correspondant aux signaux des groupements méthyle et des Csp^3 quaternaires (estimés à partir du pourcentage d'aire du massif

"résiduel" sur le spectre obtenu après déphasage dipolaire) est de l'ordre de 20 à 30 %.

On estime que la fraction d'aire qui correspond aux signaux des $(-CH_2-)_n$ (composantes (-3'-) et (-3"-)) doit se situer entre 35 et 45 %.

⟶ De l'ordre de 11 à 15 % du carbone organique total de cette fraction doit participer de groupements polymethyléniques.

Cette proportion est nettement plus élevée que dans l'Humine de précipitation.

- Plus de 80 % des signaux qui contribuent à l'épaulement (-1-) se situent dans la bande $15 < \delta < 21$ ppm.

Ces signaux correspondent pour l'essentiel

. à des groupements méthyles en iso d'un -CH- ou d'un carbone sp^2 oléfinique (motifs aliphatiques fortement ramifiés, motifs isoprenoïdes, chaines polyterpeniques)

. aux $-CH_3$ terminaux des groupements ethyle et propyle portés par des noyaux aromatiques.

- Moins de 0,5 % du C organique total participe de groupements $-CH_3$ terminaux des chaines polymethyléniques ($\delta < 15$ ppm) -ce qui correspond en moyenne à $1-CH_3$ pour plus de $30-CH_2-$

- Sur le spectre obtenu après déphasage dipolaire, l'amplitude moyenne des signaux de la bande $20 < \delta < 24$ ppm (qui correspondent aux $-CH_3$ portés par les noyaux aromatiques et aux $-CH_3$ vicinaux des groupements isopropyle terminaux) est du même ordre que celle des signaux de la bande $13 < \delta < 20$ ppm.

. Sur le spectre CP-MAS, l'épaulement (-2'-) doit correspondre, pour l'essentiel, à des $-CH_2-$: $-CH_2-$ en β d'un groupement methine portant un $-CH_3$ en iso et, pour une faible part,ici, $-CH_2-$ subterminaux (en α du groupement $-CH_3-$) des chaines polymethyléniques.

- L'épaulement (-2"-), bien marqué sur ce spectre, est associé

. aux signaux des $-CH_2-$ des chaines polymethyléniques en β d'un groupement carboxyle (-COOH ou ester).

. aux signaux des $-CH_2)$ de groupements éthyle et propyle et des $-CH<$ et $-CH_3$ des groupements isopropyle portés par des carbones aromatiques.

- Les signaux de la bande $35 < \delta < 41$ ppm qui contribuent à l'épaulement (-4'-) correspondent

. pour partie à des $-CH_2-$ des chaines polymethyléniques en α d'un carboxyle

. pour partie à des $-CH_2-$ en α d'un groupement methine portant un $-CH_3$ en iso.

- Une bonne partie des chaines polymethyléniques doivent être "terminées" par un groupement oxycarboné (-COOH(ou R) ou -OH) plutôt que par un $-CH_3$.

- Les "chaines latérales courtes" du type ethyle, propyle et isopropyle doivent prendre une part appréciable dans le schéma fonctionnel.

- Sur le spectre obtenu après déphasage dipolaire, les signaux de la bande $35 < \delta < 45$ ppm correspondent pour l'essentiel à des carbones sp^3 de type quaternaire : -C- participant de structures réticulées, carbones alkyle substitués (c'est-à-dire

portant un $-CH_3$) des motifs polycycliques saturés.

Sur le spectre CP-MAS, le massif de résonances basal, entre 20 et 60 ppm correspond en grande partie aux signaux de Csp^3 participant de ces motifs (dans le domaine A s'y ajoutent les signaux des carbones participantdes groupements methyle) Les signaux correspondant aux $-CH_2-$ et -CH- des chaines polypeptidiques n'y contribuent que dans une mesure relativement négligeable.

Les motifs ramifiés ou réticulés et les motifs polycycliques saturés prennent une part moins importante que les motifs polymethyléniques peu ou non ramifiés dans le schéma structural de cette fraction.

- Les épaulements (-5-) et (-6-) correspondent essentiellement aux signaux de $-CH_2-$ et -CH- pontants entre noyaux aromatiques.

Les liaisons de type $\geqslant C-C \leqslant$ doivent ici contribuer pour une part nettement plus importante que ces ponts alkyliques à la réticulation du nucleus.

+ Sur le spectre de l'Humine résiduelle de l'échantillon de surface du sol Andique l'amplitude de la bande (-3-) est relativement plus marquée que sur le spectre précédent (Le pourcentage d'aire dans le domaine A dépasse 38 % dans le premier cas contre seulement 30 % dans le second).

Les groupements $-(CH_2)_n-$ prennent ici une part nettement plus importante dans le schéma structural que dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 (le nombre des chaines alkyliques ou la longueur moyenne de ces chaines sont plus élevés que dans cette dernière).

Les deux composantes (-3'-) et (-3"-) ne sont pas différentiées sur se spectre (CXP 90). Le maximum (-3-) se situe vers 34 à 35 ppm ce qui indique que la composante (-3"-) doit être relativement plus marquée (La structure fine du spectre, dans la bande $28 < \delta < 35$ ppm doit être comparable à celle qu'on retrouve sur les spectres (CXP 100) des acides Humiques : figures 29 p.95 et 30 p.96).

- On n'observe pratiquement aucun signal dans la plage de δ inférieurs à 15 ppm.

Les chaines polymethyléniques ne sont pas terminées par des $-CH_3$ mais vraisemblablement, pour l'essentiel, par des groupements hétéroatomiques : -OH et -COOH (acides gras et alcools à longue chaine dont les signaux doivent contribuer à la composante (-3"-)).

- Les signaux de la bande $14 < \delta < 20$ ppm contribuant à l'épaulement (-1-) sont moins prononcés, relativement à la bande (-3-) que sur le spectre de l'Humine résiduelle provenant de l'horizon A_1.

Les motifs aliphatiques ramifiés, les motifs de type isoprenoïde et polyterpeniques prennent une part plus réduite, par rapport aux motifs polymethyléniques à longue chaine peu ou non ramifiés, en A_0 qu'en A_1.

Dans ce sol où l'activité biologique est importante, les lipides non ramifiés à longue chaine doivent être assez rapidement dégradés.

L'importance relative des constituants ramifiés et cycliques, plus résistants, augmente significativement quand on s'éloigne de la surface.

- Une partie notable des signaux contribuant à l'épaulement (-2"-) doivent ici encore correspondre aux chaines latérales courtes de type ethyle, propyle et isobutyle portées par les noyaux aromatiques.

+ Sur le spectre de l'Humine résiduelle du Podzol l'amplitude de la bande des $-(CH_2)_n-$ est nettement plus réduite, par rapport à celle du massif de résonances basal des domaines A et B (entre 20 et 60 ppm), que sur les spectres de l'Humine résiduelle du sol Andique.

Elle est également moins marquée, relativement, sur ce spectre que sur celui de l'Humine de précipitation (figure 35a p.138) et celui du résidu d'hydrolyse acide (figure 33b p.118).

Les motifs paraffiniques peu ou non ramifiés à nombre de C élevé (constituants lipidiques à longue chaine) prennent une part nettement moins importante dans le schéma structural

. de l'Humine résiduelle que dans celui de l'Humine de précipitation et du résidu d'hydrolyse

. de l'Humine résiduelle du Podzol que dans celles du sol Andique.

- Comme dans ce dernier les signaux qui contribuent au massif de résonances basal des domaines A et B (entre 20 et 60 ppm) correspondent, pour l'essentiel, à des carbones de groupements $-CH_2)$ ou $-CH<$ ou des carbones quaternaires participant de motifs aliphatiques ramifiés ou réticulés ou de motifs polycycliques saturés (Le rapport C/N est ici également supérieur à 50).

Fractions de l'Humine résiduelle

Par tamissage humide, sédimentation et ultra centrifugation le "résidu insoluble" a été fractionné en quatre sous ensembles en fonction de la taille et de la vitesse de sédimentation des particules.

- Une fraction grossière qui regroupe les particules qui sont retenues sur le tamis 50 µ.
- Une fraction intermédiaire qui regroupe les particules de diamètres équivallents compris entre 50 µ et 5 µ.
- Une fraction fine qui regroupe les particules de diamètres équivallents compris entre 5 µ et 0,5 µ.
- Une fraction "ultra fine" qui regroupe les particules de diamètres équivallents inférieurs à 0,5 µ.

La distribution du carbone entre les quatre fractions des Humines résiduelles provenant de l'horizon A_0 et de l'horizon A_1 du sol Andique est donnée dans le tableau suivant.

Horizon	> 50 µ	50 µ > > 5 µ	5 µ > > 0,5 µ	< 0,5 µ
A_0	6,9 %	37,8 %	46,8 %	3,8 %
A_1	3,8 %	18,2 %	70,9 %	4,1 %

- La fraction fine (5 µ > > 0,5 µ) la plus riche en constituants organiques n'est pas la plus représentée pondéralement.

Dans l'échantillon de surface : 46 % du "résidu insoluble" se retrouvent dans la fraction intermédiaire (50 µ > > 5 µ), 24,3 dans la fraction grossière et seulement 22,1 % dans la fraction fine.

Dans l'échantillon provenant de l'horizon A_1 ces proportions sont respectivement de 46,3 %, 12,95 % et 36,3 %.

- Les ciments minéraux et Humiques des agrégats organominéraux ont été en grande partie "solubilisés" par les traitements acides et sodiques successifs.

Le matériau organique de la fraction grossière est essentiellement constitué de particules figurées, et teinte foncée, de densité relativement faible (voisine de 1 pour certaines) ne présentant pas de liaison avec les particules minérales (grains de quartz en grande partie).

Celui de la fraction fine de particules ne présentant aucun caractère organisé. Entités polymoléculaires (microagrégats ou micelles) dans lesquelles la cohésion entre les différents constituants est assurée pour l'essentiel par des liaisons Hydrogène.

L'Humine résiduelle a été décationisée par dialyse puis lyophilisée avant le fractionnement physique.

Les liaisons intermoléculaires (ponts -H) qui se sont formées lors de cette phase de "dessication" sont en grande partie conservées lorsque l'échantillon est redispersé dans l'eau.

Ceci explique, entres autres, qu'on ne retrouve que très peu de constituants organiques dans la fraction (< 0,5 µ).

- Les spectres des quatre fractions obtenues à partir de l'Humine résiduelle de l'horizon A_0 sont représentés sur les figures 44 et 45.

Ceux de la fraction intermédiaire et de la fraction fine de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 sur la figure 46.

- On relève un certain nombre de différences structurales significatives entre les fractions grossière et fine.

- Carbohydrates

- On retrouve des quantités non négligeables de polysaccharides dans l'ensemble des fractions provenant de l'échantillon de surface.

Elles varient significativement d'une fraction à l'autre.

- C'est dans la fraction intermédiaire que leur teneur est la plus élevée.

Sur le spectre de cette dernière le pourcentage d'aire du domaine C est de l'ordre de 19 à 20 %.

En admettant que la bande (-9-) est dûe pour l'essentiel aux signaux des groupements >CH-OH des unités glucopyranose, on estime que la fraction d'aire du massif C correspondant aux signaux des $C_{2 \text{ à } 6}$ de ces cycles doit se situer ici entre 35 et 50 %.

La proportion de carbones participant des polysaccharides est donc de l'ordre de 8 à 12 % (en équivallents glucose) dans cet échantillon.

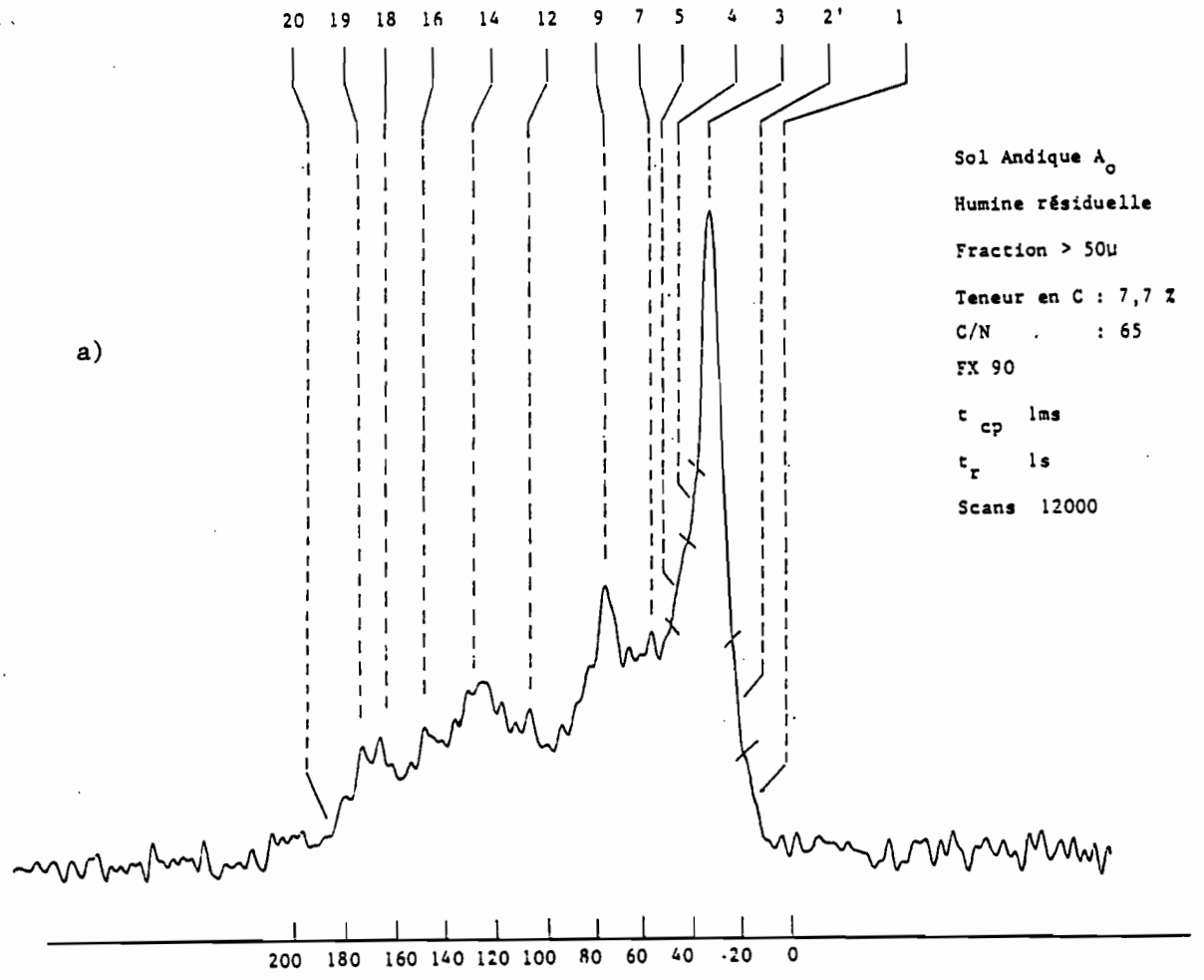
Il doit s'agir pour l'essentiel de cellulose présentant un certain degré d'organisation (microfibrilles) - La bande (-9-) est ici relativement étroite et se détache nettement du massif de résonances basal du domaine C.

+ Dans la fraction grossière le pourcentage d'aire du domaine C est de l'ordre de 20 %.

La part des signaux correspondants aux groupements O-alkyle ne relevant pas des unités structurales des carbohydrates doit être plus importante que sur le spectre précédent. Le massif de résonances basal étant, relativement, plus marqué ici.

La fraction d'aire qu'on peut attribuer aux signaux des $C_{2 \text{ à } 6}$ des cycles glucopyranose ne devrait pas dépasser 30 à 40 %.

Dans cette hypothèse la teneur en polysaccharide se situerait en dessous de 10 % dans cet échantillon.


20 19 18 16 14 12 9 7 5 4 3 2' 1
a)
Sol Andique A_o
Humine résiduelle
Fraction > 50u
Teneur en C : 7,7 %
C/N : 65
FX 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans 12000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

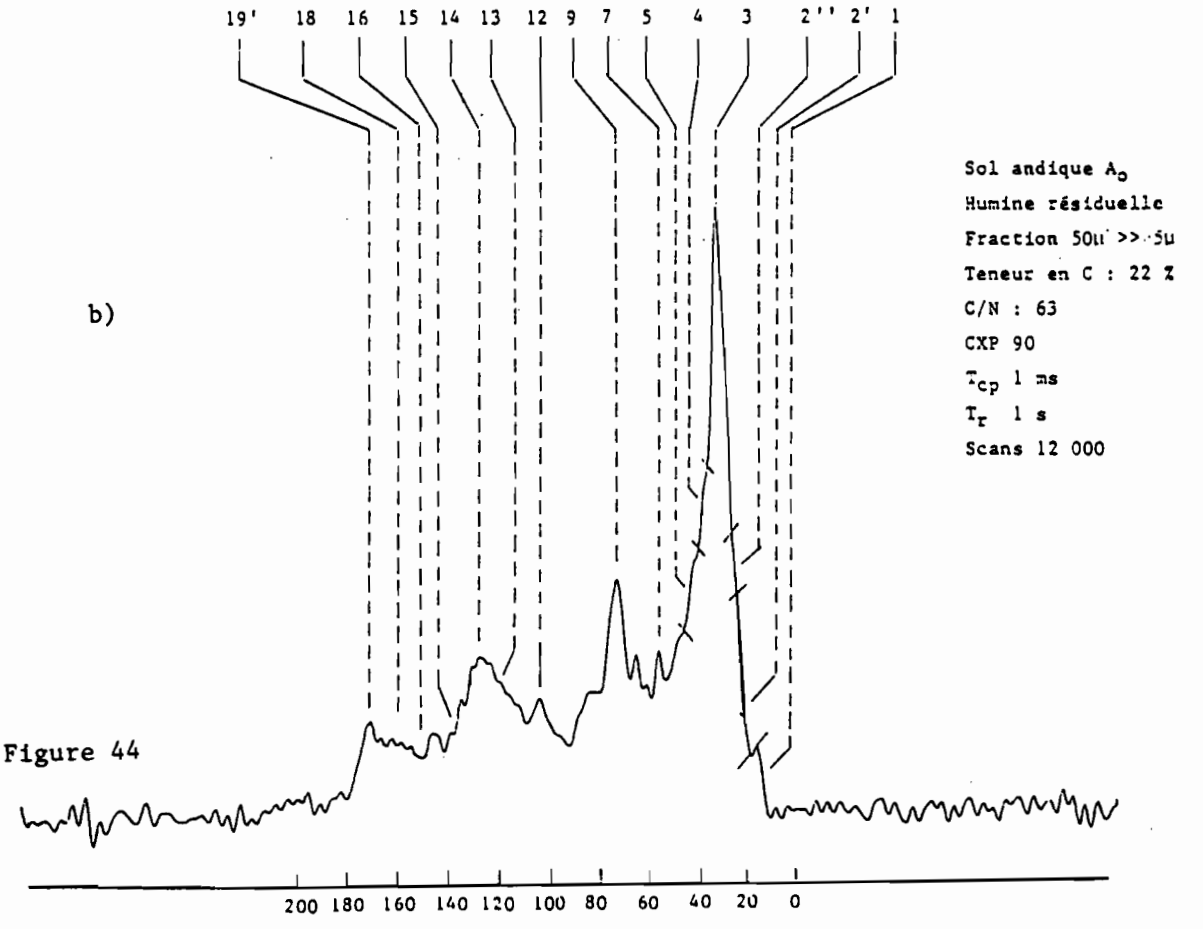
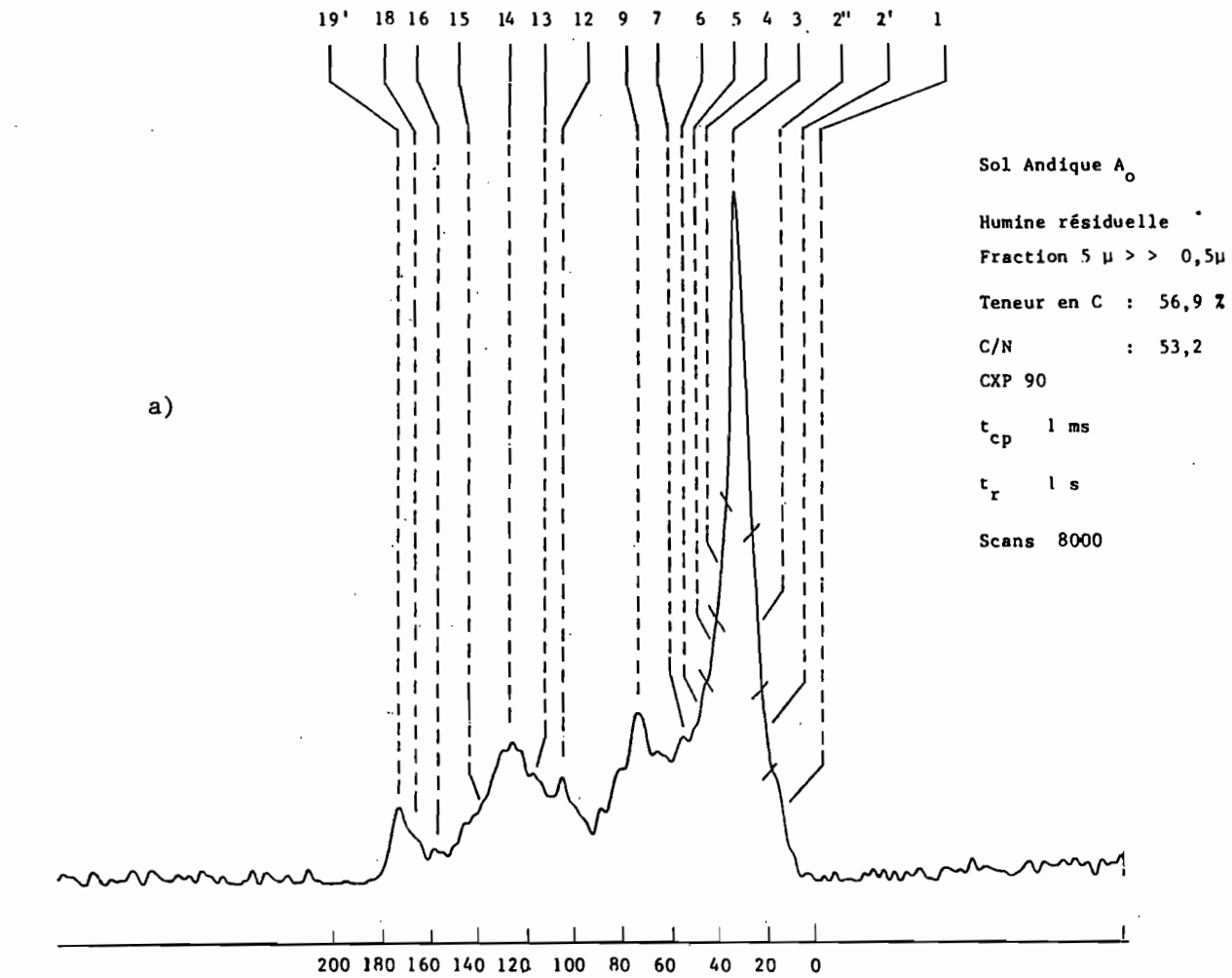

19' 18 16 15 14 13 12 9 7 5 4 3 2'' 2' 1
b)
Sol andique A_o
Humine résiduelle
Fraction 50u >> 5u
Teneur en C : 22 %
C/N : 63
CXP 90
T_{cp} 1 ms
T_r 1 s
Scans 12 000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 44


19' 18 16 15 14 13 12 9 7 6 5 4 3 2" 2' 1
a)
Sol Andique A_o
Humine résiduelle
Fraction 5 µ > > 0,5µ
Teneur en C : 56,9 %
C/N : 53,2
CXP 90
t_{cp} 1 ms
t_r 1 s
Scans 8000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

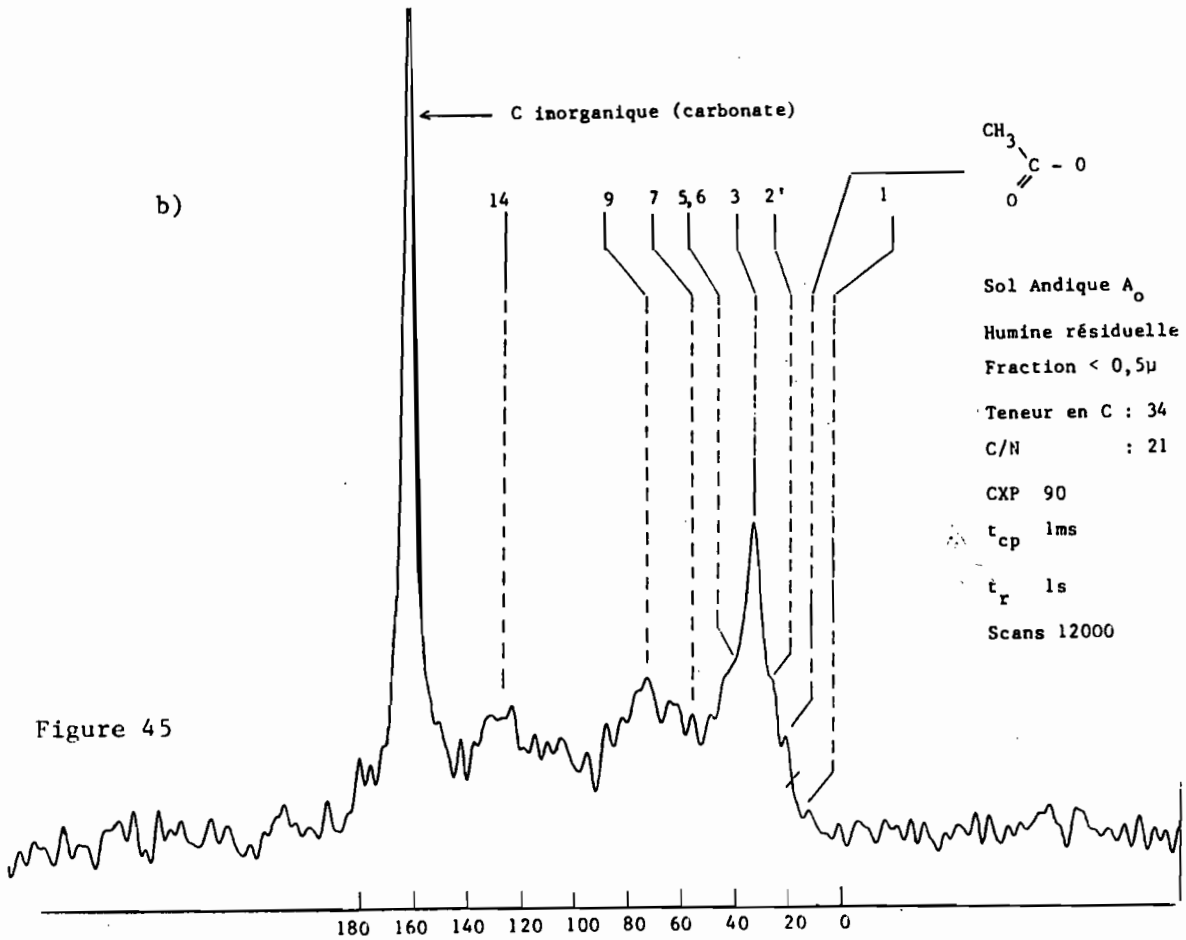
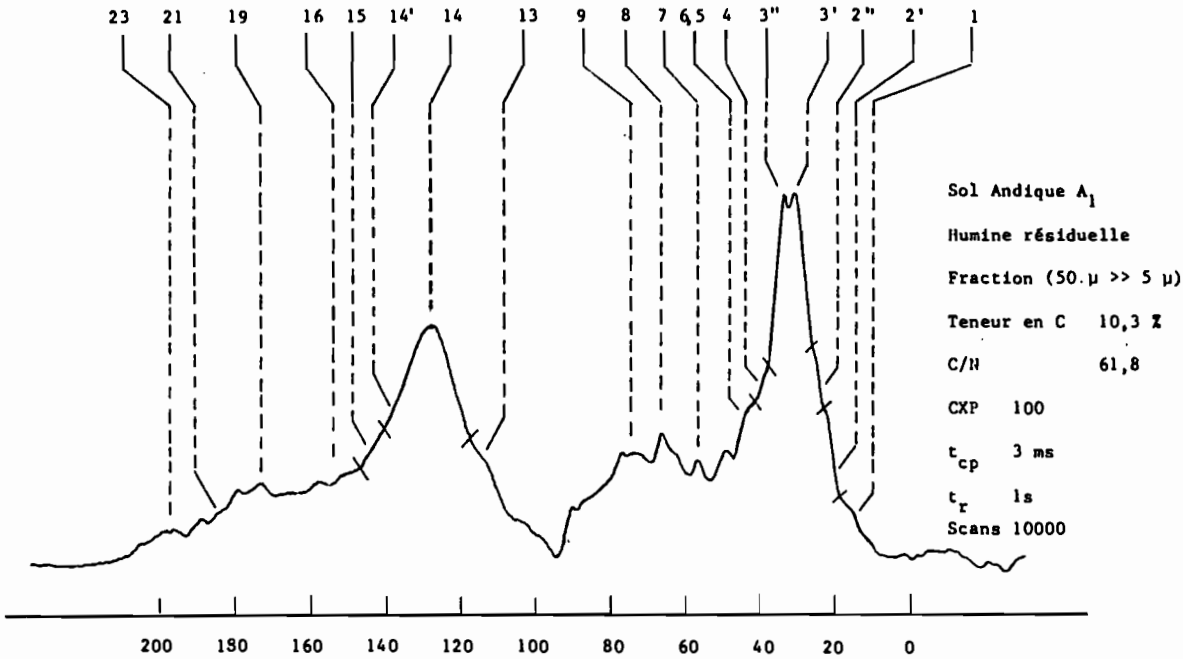

C inorganique (carbonate)
b)
14 9 7 5,6 3 2' 1
CH_3 C - O
O
Sol Andique A_o
Humine résiduelle
Fraction < 0,5µ
Teneur en C : 34
C/N : 21
CXP 90
t_{cp} 1ms
t_r 1s
Scans 12000
180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 45

a)


23 21 19 16 15 14' 14 13 9 8 7 6,5 4 3" 3' 2" 2' 1
Sol Andique A_1
Humine résiduelle
Fraction (50 μ >> 5 μ)
Teneur en C 10,3 %
C/N 61,8
CXP 100
t_{cp} 3 ms
t_r 1s
Scans 10000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

b)

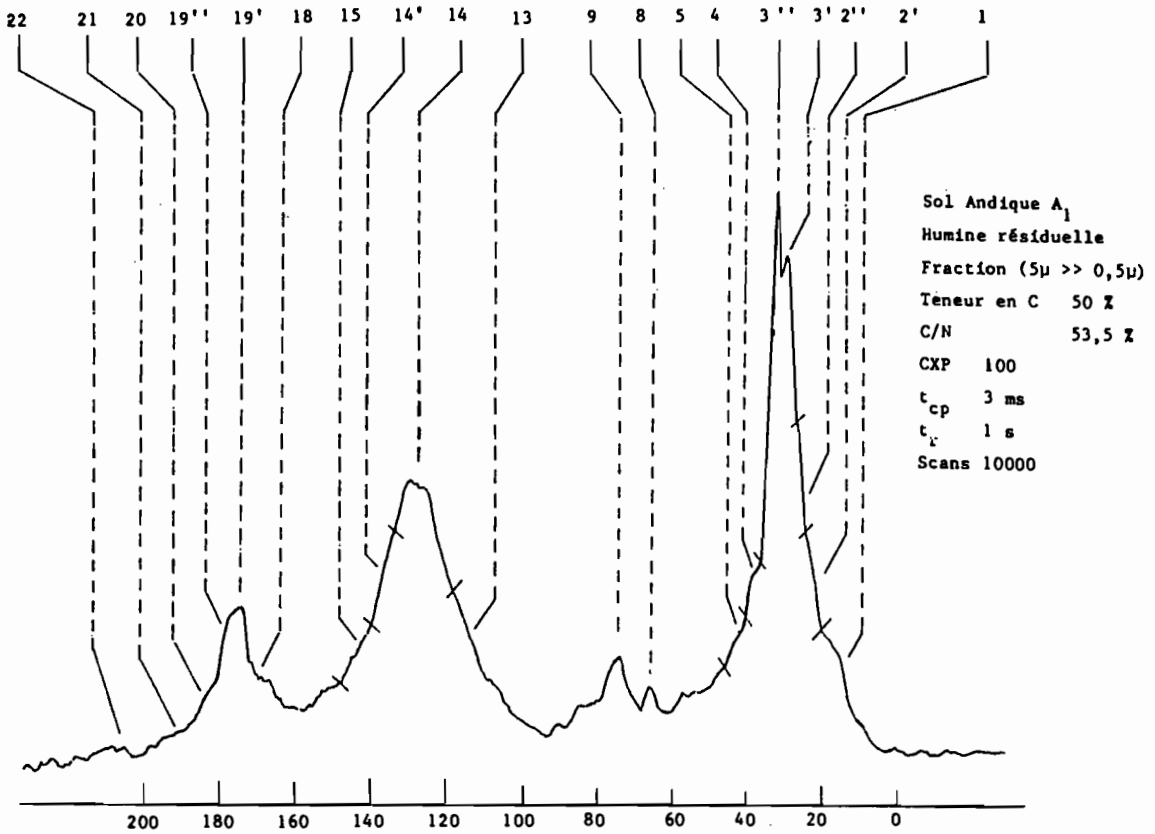

22 21 20 19'' 19' 18 15 14' 14 13 9 8 5 4 3'' 3' 2'' 2' 1
Sol Andique A_1
Humine résiduelle
Fraction (5μ >> 0,5μ)
Teneur en C 50 %
C/N 53,5 %
CXP 100
t_{cp} 3 ms
t_r 1 s
Scans 10000
200 180 160 140 120 100 80 60 40 20 0

Figure 46

+ Dans la fraction fine (5 μ > > 0,5 μ) le pourcentage d'aire du massif C est de l'ordre de 14 à 15 %.

On estime qu'entre 40 et 50 % de cette aire devraient correspondre aux signaux des $C_{2 \text{ à } 6}$ de cycles glucopyranose.

La teneur en polysaccharides n'atteint pas 8 % dans cette fraction.

+ Le spectre de la fraction (< 0,5 μ) présente un rapport signal/bruit trop faible pour qu'il soit possible d'évaluer quantitativement la part qui revient aux signaux des polysaccharides au niveau du massif C.

+ Sur le spectre de la fraction intermédiaire de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 la bande (-9-) ne se différentie pratiquement plus du massif de résonances basal.

La bande (-12-) des carbones anomériques n'est pratiquement pas décelable.

Contrairement à ce qui se passait dans l'Humine résiduelle provenant de l'échantillon de surface les polysaccharides ne prennent plus qu'une part négligeable dans la structure de cette fraction.

+ On en retrouve par contre dans la fraction fine où leur teneur ne doit cependant pas dépasser 3 à 4 % (en pourcentage du C total).

Ils doivent être incorporés ici au matériau Humique (Humine d'insolubilisation) ce qui a eu pour effet de les soustraire à la biodégradation.

- Composants aromatiques

Dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_0, les proportions de carbones sp^2 varient relativement peu d'une fraction à l'autre.

Elles se situent respectivement (les carbohydrates n'étant pas pris en compte)

. entre 25 et 27 % dans la fraction grossière
. entre 27 et 29 % dans la fraction intermédiaire
. entre 23 et 25 % dans la fraction fine
. au dessus de 30 % dans la fraction (< 0,5 μ)

N.B. : Compte tenu de la proportion élevée de carbone inorganique (carbonate de Na) qu'on retrouve dans cette fraction et dont les signaux sont pris en compte dans l'intégration qui donne l'aire totale du spectre entre 0 et 200 ppm, ce pourcentage doit en fait être largement supérieur à 30 %.

Le taux d'aromaticité de l'Humine résiduelle augmente significativement quand on s'éloigne de la surface.

— Dans la fraction fine de l'échantillon provenant de l'horizon A_1 la proportion de carbones sp^2 dépasse 40 %.

— Elle est ici nettement plus élevée que dans la fraction intermédiaire où elle se situe entre 30 et 34 %.

Les caractéristiques structurales du matériau aromatiques diffèrent quelque peu d'une fraction à l'autre.

+ Dans la fraction grossière on devrait retrouver surtout des constituants hérités -constituants des tissus de soutien et de protection (cuticules), constituants des tissus vasculaires, relativements résistants à la biodégradation.

La lignine héritée, partiellement transformée, devrait prendre ici une part déterminante dans le schéma structural (au niveau de la composante aromatique).
Remarque : Selon Toutain et al [129] une fraction non négligeable du matériau aromatique qu'on retrouve dans les sols pourrait participer ou dériver des complexes polyphénol-protéine qui se forment et s'accumulent dans les tissus folliaires en voie de senescence.

Le rapport C/N étant supérieur à 65, ces constituants ne doivent prendre qu'une part très réduite dans la structure de l'Humine résiduelle de ce sol -soit qu'ils aient été en grande partie dégradés, soit qu'ils aient été hydrolysés et "solubilisés" par les traitements acides qui sont mis en oeuvre-

— La figure (47) permet de comparer (dans le domaine 50 < δ < 200 ppm) le spectre de la fraction grossière de l'Humine résiduelle à celui de la matière organique fraiche.

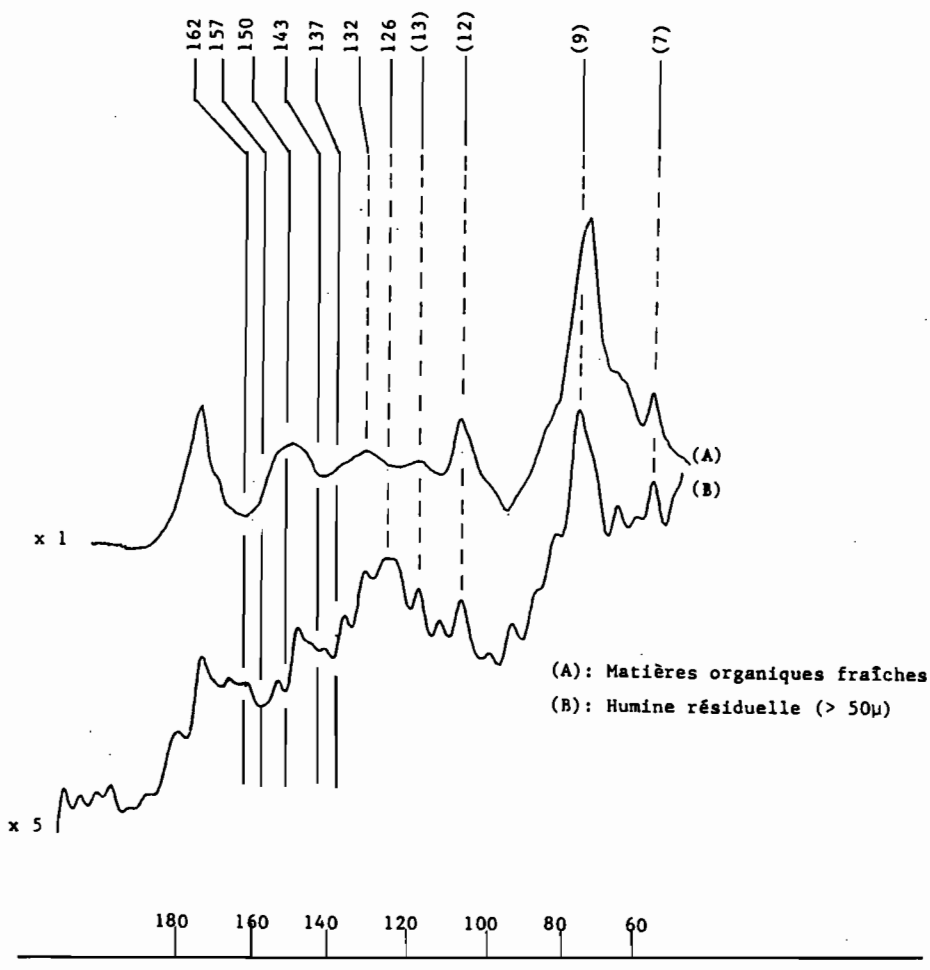


Figure 47

On relève entre eux un certain nombre de différences significatives.

- Sur le spectre de l'Humine résiduelle la bande (-7-) qui correspond aux signaux des $-CH_3$ des groupements aryl-methoxyl est beaucoup moins marquée, relativement à ceux des domaines D et E, que sur le spectre de la matière organique fraiche.

- Le taux moyen d'hétérosubstitution des carbones sp^2 est nettement plus faible dans l'Humine résiduelle que dans la matière organique fraiche -1,3 à 1,5 pour 6 contre 2,0 à 2,5 pour 6-

—— Dans l'Humine résiduelle une bonne partie des cycles ne comportent au plus qu'un carbone hétérosubstitué.

- Dans le domaine E, les signaux de la bande $155 < \delta < 162$ ppm sont plus marqués, relativement à ceux de la bande $145 < \delta < 155$ ppm, sur le spectre de l'Humine résiduelle que sur celui de la matière organique fraiche.

. Sur le premier la fraction d'aire du massif E comprise entre 155 et 162 ppm est de l'ordre de 20 à 30 % (soit 1,2 à 1,8 % de l'aire totale du spectre entre 0 et 200 ppm). Elle ne dépasse pas 5 % sur le second.

. Le rapport de l'amplitude moyenne des signaux de la bande $155 < \delta < 162$ ppm à l'amplitude moyenne des signaux de la bande $122 < \delta < 128$ ppm (les plus marqués du domaine D) se situe autour de 0,3 sur le spectre de la matière organique fraiche, autour de 0,5 sur celui de l'Humine résiduelle.

- Sur le spectre de la matière organique fraiche les signaux de la bande $145 < \delta < 155$ ppm doivent correspondre, pour l'essentiel, aux groupements $\geqslant C-OCH_3$ $\geqslant C-OH$ et $\geqslant C-O-CH<$ des motifs guaiacyl de la lignine, les signaux des $\geqslant C-O-CH<$ se situant, en grande partie, dans la bande $150 < \delta < 155$ ppm [121].

- Les Csp^2 participant d'un groupement aryl-alkyl ether ($\geqslant C-OCH_3$ ou $\geqslant C-O-CH<$) en ortho et para d'un C protoné ou alkyle substitué ont des δ compris entre 155 et 164 ppm.

—> Les différences qu'on relève (dans le domaine aromatique) entre les deux spectres tendent à conforter l'hypothèse, dont nous avons fait état plus haut, selon laquelle dans la lignine héritée

- Une partie au moins des ponts aryl-alkyl ether qui relient entre elles les unités guaiacyle ou syringyle, sont conservés.

- Une proportion notable des groupements aryl-methoxyls sont remplacés par des groupements ou liaisons qui exercent un effet déblindant sur le Csp^2 de la liaison aryl-alkyl ether en ortho, donc par des groupements autres qu'hydroxyles.

Des groupements carboxyles (-COOH ou -COOR), entre autres.

N.B. : Si on admet que la plus grande partie des Csp^2 sont de type aromatique et que les signaux de la bande $155 < \delta < 162$ ppm correspondent, pour l'essentiel, à des groupements aryl-alkyl ether, on estime que dans l'Humine résiduelle de cette fraction, de l'ordre de 0,2 à 0,4 C par cycle, en moyenne doivent participer de liaisons $\geqslant C-O-CH<$ pontantes, en ortho d'un groupement autre que -OH ou $-OCH_3$.

Dans la lignine la proportion moyenne des Csp^2 participant des liaisons ether pontantes se situe entre 0,8 et 1,2, par cycle.

- Sur le spectre de l'Humine résiduelle, les signaux de la bande $137 < \delta < 145$ ppm sont plus marqués, relativement à ceux de la bande $145 < \delta < 155$ ppm, que sur le spectre de la matière organique fraiche.

Nous verrons que cette tendance est encore plus marquée sur le spectre de la fraction fine.

Ces signaux peuvent être associés

. pour partie à des $\geqslant$C-OH en ortho d'un $\geqslant$C-OCH_3 (motifs guaiacyl de la lignine) ou d'un autre $\geqslant$C-OH — motifs O-dihydroxylés (-dans la zone de $\delta > 141$-142 ppm-)

. pour partie à des Csp^2 participant de liaisons C-C, en ortho et para d'un C protoné ou alkyle substitué (-dans la zone de $\delta < 140$-141 ppm-)

. dans une mesure plus réduite, ici, à des Csp^2 liés à un atome d'azote (-NH- ou =N- pontants, hétérocycles azotés).

- Sur le spectre de l'Humine résiduelle les signaux les plus intenses du domaine D se situent dans la bande $122 < \delta < 128$ ppm.

Ils sont beaucoup plus marqués, relativement que sur le spectre de la matière organique fraiche.

Ces signaux correspondent

. pour partie à des Csp^2 protonés, en ortho et para d'un C protoné ou alkyle substitué, ou en para d'un C hétérosubstitué,

. pour partie à des Csp^2 de type quaternaire : carbones sp^2 portant un groupement carboxyle en ortho ou para d'un C hétérosubstitué (groupements carboxyles remplaçant les $-OCH_3$ de la lignine, entre autres), carbones aromatiques alkyle substitués en ortho d'un groupement -OH ou OCH_3.

—> Le pourcentage de carbones sp^2 participant de liaisons C-C, donc le taux de réticulation du matériau aromatique doivent être ici sensiblement plus élevés que dans la lignine et la matière organique fraiche.

—— Par rapport à la lignine non altérée et à la matière organique fraiche, dans l'Humine résiduelle on trouve une proportion significative d'unités et motifs aromatiques dont l'empreinte spectrale, donc les configurations et caractéristiques structurales, sont analogues à celles des constituants Humiques néoformés -motifs présentant un taux de réticulation relativement élevé, réticulation assurée par des liaisons de type C-C plutôt que par des ponts ethers et dont le taux d'hétérosubstitution moyen est sensiblement plus faible que celui des constituants aromatiques primaires (lignine ou composants aromatiques non apparentés à la lignine : tannins, flavonoïdes, mélanines végétatles et fongiques).

Deux hypothèses peuvent être envisagées.

- Ces motifs dérivent directement de la lignine. Sans passer par une phase de dépolarisation et de "solubilisation" préalable, cette dernière se transformerait progressivement et de proche en proche (démethoxylation, acquisition de groupements carboxyles, apparition de nouvelles liaisons C-C, à la place de groupements $\geqslant$C-OH ou entre carbones protonés) et sa structure finirait par s'apparenter à celle du nucleus des macromolécules Humiques (Humification directe).

- Ils relèveraient en fait de constituants distincts, associés à la lignine. Constituants néoformés à partir de monomères ou oligomères phénoliques ou quinoniques (non apparentés à la lignine ou provenant de la dégradation partielle de cette dernière) qui sont restés piégés dans les espaces intersticiels du matériau ligneux et qui ont subi en quelque sorte une condensation "sur place".

+ Sur le spectre de la fraction fine (5 µ > > 0,5 µ) de l'Humine résiduelle de l'horizon A_0.

- Les signaux du $-CH_3$ des groupements aryl methoxyles ne se différentient plus qu'à peine du massif de résonances basal.

- Dans le domaine E les signaux de la bande 145 < δ < 155 ppm ainsi que ceux de la bande 155 < δ < 162 ppm sont peu marqués.

Le rapport de l'amplitude moyenne de ces derniers à l'amplitude moyenne des signaux de la bande 122 < δ < 128 ppm est ici inférieur à 0,2.

La fraction d'aire du massif E comprise entre 155 et 162 ppm n'atteint pas 10 %.

La proportion de Csp^2 participant de liaisons $\geqslant$C-O-CH$\leqslant$ne devrait pas dépasser 0,1 pour 6, en moyenne.

⟶ Les ponts aryl-alkyl ether ne contribuent plus que dans une mesure relativement réduite à la réticulation des motifs aromatiques.

- Le taux d'hétérosubstitution moyen des carbones sp^2 est de l'ordre de 0,6 à 0,8 pour 6.

Les signaux les plus intenses du domaine E se situent dans la bande 138 < δ <147 ppm.

Ces signaux doivent correspondre pour une part non négligeable (δ > 141-142 ppm) à des $\geqslant$C-OH en position ortho (cycles O-dihydroxylés) ou para (cycles P-dihydroxylés) -Les signaux de la bande 112 < δ < 118 ppm (épaulement -13-) qui correspondent, pour l'essentiel, à des Csp^2 protonés en ortho de $\geqslant$C-OH sont bien marqués sur ce spectre-

La proportion de noyaux dihydroxylés doit être sensiblement plus importante que celle des noyaux ne portant qu'un seul groupement hétéroaromatique (autre que carboxyle).

Ceci, joint au fait que le taux moyen d'hétérosubstitution des carbones sp^2 est nettement inférieur à 1, implique qu'une partie non négligeable des noyaux ne doivent porter aucun hétéroatome.

— Les signaux de la bande $122 < \delta < 128$ ppm sont plus marqués, relativement, que sur le spectre précédent.

⟶ La lignine héritée ne doit prendre qu'une part assez réduite dans le schéma structural de cette fraction (ou il faudrait admettre qu'elle a subi une transformation radicale, telle que du point de vue structural elle ne se différentie pratiquement plus des constituants Humiques.)

Remarques : - Les noyaux O-dihydroxylés sont une des composantes du motif structural des tannins catéchiques.

Si on doit effectivement retrouver une partie des tannins condensés dans le "résidu inextractible" il apparait peu vraisemblable, dans ce sol, qu'ils en constituent une composante majeure.

- De même, le rapport C/N étant supérieur à 50, les complexes polyphénol-protéine ne doivent prendre ici qu'une part réduite dans la structure.

⟶ Une bonne partie des unités et motifs aromatiques qu'on retrouve dans cette fraction doivent relever de composants néoformés, par polycondensation à partir de monomères ou oligomères phénoliques provenant de la biodégradation des constituants aromatiques primaires (lignine ou produits non apparentés à la lignine).

Ceci signifie que, dans ce sol, déjà dans l'horizon A_0, le taux d'Humification de la matière organique est important.

Une proportion notable des constituants Humiques formés ne sont plus extractibles par la soude 0,1 N et se retrouvent dans l'Humine résiduelle.

. soit qu'ils aient déjà atteint un degré de condensation relativement élevé

. soit qu'ils aient perdu une bonne partie des chaines latérales et des groupements fonctionnels (-par biodégradation ou, en partie, lors du fractionnement sous l'effet des traitements acides mis en oeuvre-)

Nous reviendrons plus loin sur ce point.

+ Dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 plus de 70 % du carbone organique se retrouve dans la fraction fine.

Dans les domaines D et E le spectre de cette dernière ne diffère pas sensiblement de celui de l'Humine résiduelle globale (figure 43b) et de celui de l'Humine de précipitation (figures 43b et 43 c).

⟶ L'Humine d'insolubilisation prend une part prépondérante dans cette fraction.

— Le taux d'hétérosubstitution moyen des carbones sp^2 est inférieur à 0,5 pour 6.

— Les signaux les plus marqués du domaine E se situent dans la bande $138 < \delta < 148$ ppm. Ils doivent correspondre, pour l'essentiel, (dans le domaine des $\delta > 141$-142 ppm) à des $\geqslant$C-OH de cycles O-dihydroxylés ou P-dihydroxylés, ce qui implique que, en

moyenne, plus de la moitié des noyaux aromatiques ne portent pas d'hétéroatome.

Entre 55 et 60 % des Csp^2 qui résonnent dans la plage de fréquence, du domaine D sont de type quaternaire, c'est-à-dire participent de motifs polyaromatiques, de liaisons C-C ($\geqslant$C-C$\leqslant$, $\geqslant$C-$(CH_2)_n$-C$\leqslant$, $\geqslant$C-CH-C$\leqslant$) ou sont alkyle substitués (groupements -COOH(ou R), chaines latérales).

Le degré de réticulation des composants aromatiques est important dans cette fraction. Cette réticulation est assurée, pour l'essentiel, par des liaisons de type C-C (motifs polyaromatiques, liaisons $\geqslant$C-C$\leqslant$ ou ponts alkyliques).

+ Sur le spectre de la fraction intermédiaire (50 µ > > 5 µ) de l'Humine résiduelle de l'horizon A_0.

- La bande (-7-) des groupements aryl-methoxyls se détache nettement du massif B. Elle est même légèrement plus marquée que sur le spectre de la fraction grossière.

Les motifs aromatiques participant ou dérivant de la lignine doivent encore prendre une part importante dans la structure de cette fraction (qui est également, comme nous l'avons souligné, la plus riche en polysaccharides).

- Par contre, par rapport au spectre de la fraction grossière

. le taux d'hétérosubstitution moyen des carbones sp^2 est ici sensiblement plus faible. Il se situe entre 1 et 1,2 pour 6.

. les signaux de la bande 122 < δ < 120 ppm sont relativement plus marqués.

Si on se réfère aux conclusions précédentes ceci tendrait à indiquer qu'on y trouve d'avantage de produits néoformés que dans cette dernière.

- Cette fraction est en fait plus hétérogène que les autres.

On y retrouve une proportion importante d'éléments figurés dans lesquels des constituants hérités (lignine partiellement transformée, cellulose) doivent encore prendre une part prépondérante.

Les particules les plus fines et ne présentant pas d'organisation apparente devant incorporer surtout des constituants néoformés analogues à ceux qu'on trouve dans la fraction (5 µ > > 0,5 µ).

+ Sur le spectre de la fraction intermédiaire de l'horizon A_1

- La bande (-7-) des groupements aryl-methoxyls n'est pratiquement plus décelable.

- Dans le domaine E, les différents signaux de la bande 150 < δ < 162 ppm ont en gros la même intensité, comme sur les spectres des fractions intermédiaires et grossière de l'horizon A_0, alors que sur le spectre de la fraction fine les signaux de la bande 155 < δ < 162 ppm sont nettement moins prononcés que ceux de la bande 150 < δ < 155 ppm.

Le rapport de l'amplitude moyenne des signaux de la bande 155 < δ < 162 ppm à l'amplitude moyenne des signaux de la bande 124 < δ < 130 ppm est ici de l'ordre de 0,28 à 0,30. Il est nettement plus élevé que sur le spectre de la fraction fine.

— Le taux d'hétérosubstitution moyen des carbones sp^2 se situe entre 0,9 et 1,1 pour 6 alors que dans cette dernière il ne dépasse pas 0,6 pour 6.

Dans la fraction intermédiaire, les groupements aryl-alkyl ether prennent encore une part non négligeable dans le schéma structural.

Il doit s'agir en grande partie de $>C-O-CH<$ pontants de la lignine héritée.

— Cette dernière montre ici un degré de transformation plus poussé qu'en A_0.

Elle ne comporte pratiquement plus de groupements $-OCH_3$.

. Une bonne partie de ces derniers doivent être remplacés par des groupements autres qu'hydroxyles (groupements exerçant par rapport à ces derniers un effet déblindant sur le Csp^2 de la liaison aryl-alkyl ether, comme les -COOH).

- Sur ce spectre, les signaux de la bande $124 < \delta < 130$ ppm sont sensiblement plus marqués, relativement à ceux du domaine E, que sur le spectre de la fraction intermédiaire de l'horizon A_0.

Les constituants néformés prennent ici une part plus importante dans le schéma structural que dans cette dernière.

Composition fonctionnelle

La proportion de carbones participant de groupements oxygénés est sensiblement plus élevée dans la fraction grossière que dans les fractions fines.

Le taux apparent de fonctionalisation oxycarboné se situe

. entre 27 et 30 % dans la fraction grossière de l'horizon A_0

. entre 17 et 20 % dans la fraction fine de l'horizon A_0

. entre 19 et 22 % dans la fraction fine de l'horizon A_1

. entre 24 et 26 % dans la fraction intermédiaire de l'horizon A_0.

La distribution des divers types de groupements diffère quelque peu, d'une fraction à l'autre et, dans la fraction fine, en fonction du degré d'évolution du matériau organique.

+ Dans la fraction grossière de l'horizon A_0 de l'ordre de 29 à 32 % des carbones "oxygénés" participent de groupements carboxyles. La contribution des groupements amide est ici négligeable.

Les différents signaux de la bande $160 < \delta < 175$ ppm ont en gros la même intensité, aucune composante ne prend statistiquement plus d'importance que les autres

Près de la moitié des $-C\begin{smallmatrix}=O\\-O-\end{smallmatrix}$ doivent ici participer de groupements esters (aliphatiques ou aromatiques).

Les groupements quinoïdes (épaulement -20-) et, dans une mesure plus réduite, les groupements aldehyde prennent une part non négligeable dans le schéma fonctionnel.

- La proportion de groupements oxygénés, autres que carboxyles, associés aux unités structurales aromatiques ($>C-OH$, $>C-OCH_3$ et $>C-O-CH<$ de la lignine héritée, $>C-OH$ et $>C-O-C<$ desconstituants Humiques) se situe entre 18 et 20 %.

- Près de la moitié des fonctions oxycarbonées sont du type O-alkyle (groupements aryl-alkyl ether de la lignine héritée, groupements alkyl ether OH-alcooliques

et -OH esterifiés).

+ Dans la fraction fine de l'Humine résiduelle de l'horizon A_0 la proportion de groupements carboxyles est de l'ordre de 25 à 28 % (en pourcentage des carbones oxygénés).

Le spectre de cet échantillon se différentie du précédent, dans le domaine F, par le fait que les signaux de la bande $170 < \delta < 175$ ppm, qui contribuent au maximum (-19-) sont nettement plus marqués que les autres groupes de signaux de la bande $160 < \delta < 180$ ppm.

Ils doivent correspondre, pour l'essentiel à des -COOH portés par les noyaux aromatiques.

L'acidité carboxylique est en grande partie liée à la fraction aromatique. Les signaux de la bande $175 < \delta < 185$ ppm sont peu marqués sur ce spectre.

Les groupements esters (signaux de la bande $160 < \delta < 170$ ppm) prennent une part, relativement, moins importante dans le schéma fonctionnel de cette fraction que dans celui de la fraction grossière.

La contribution des groupements quinoniques est négligeable (pas de signaux décelables entre 180 et 200 ppm).

- La proportion de groupements oxygénés, autres que carboxyles, associés aux unités structurales aromatiques ne dépasse pas 15 à 16 %.

Elle est nettement plus faible que dans la fraction grossière.

Il doit s'agir pour une bonne part de $\geqslant$C-OH de motifs O-dihydroxylés.

- La proportion de groupements O-alkyle est plus élevée que dans cette dernière. Entre 55 et 60 % des "carbones oxygénés" résonnent dans la plage de fréquences du domaine C.

Les groupements alkyle-ether et hydroxyles alcooliques doivent ici prendre une part nettement plus marquée dans le schéma fonctionnel que dans la fraction grossière. Celle des groupements esters aliphatiques étant relativement plus réduite.

On notera que

- le taux de fonctionalisation du matériau organique dans la fraction fine de l'Humine résiduelle est sensiblement plus faible que dans l'Humine de précipitation correspondante (17 à 20 % contre 27 à 30 % en A_0),
- dans cette dernière les unités structurales aromatiques comportent une proportion plus élevée de "groupements actifs" : $\geqslant$C-OH et surtout $\geqslant$C-COOH
- les enchainements peptidiques prennent encore une part marquée dans le schéma structural de l'Humine de précipitation, alors que dans celui de l'Humine résiduelle leur contribution est très réduite.

⟶ Ceci expliquerait en grande partie que les composés aromatiques, pour l'essentiel néoformés, qu'on retrouve dans la fraction fine de l'Humine résiduelle, ne soient plus extraits par la soude 0,1 N même à pH 12.

En A_0 le degré de réticulation et de condensation des noyaux ne devrait pas

encore avoir atteint un niveau tel que ces composants ne puissent plus être dispersés.

—— Les constituants qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation ont subi la même succession de traitements acides que ceux qu'on retrouve dans l'Humine résiduelle. L'insolubilisation de ces derniers (résultant de la perte des chaines latérales fonctionalisées comme les chaines peptidiques, et des groupements fonctionnels) doit donc être essentiellement le fait de la biodégradation.

+ Dans la fraction fine de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 les groupements carboxyles représentent entre 45 et 50 % des fonctions oxycarbonées.

Cette proportion est nettement plus importante qu'en A_0.

Les signaux de la bande $170 < \delta < 180$ ppm se détachent nettement du massif de résonances basal du domaine F.

En admettant que ces signaux correspondent, pour l'essentiel, à des -COOH on estime que de l'ordre de 5 à 7 % du C organique total participe de ces groupements.

L'acidité carboxylique associée aux composants aliphatiques devrait être ici en gros du même ordre que celle qui est associée aux unités structurales aromatiques.

- Comme dans l'échantillon de surface la proportion des carboxyles participant de groupements esters est relativement réduite.

- Par contre les groupements quinoïdes ainsi que les groupements aldehyde prennent ici une part non négligeable dans le schéma fonctionnel (les groupements quinoïdes doivent représenter entre 1 et 2 % (en pourcentage du C total)).

- La proportion de groupements oxygénés, autres que carboxyles, portés par des noyaux aromatiques se situe entre 8 et 12 %. Elle est plus faible qu'en A_0.

Il doit s'agir, pour l'essentiel d'OH phénoliques (la bande (-7-) des $-OCH_3$ n'est pratiquement plus décelable) et, dans une moindre mesure, de groupements aryl ether pontants ($>C-O-C<$, signaux de la bande $150 < \delta < 155$ ppm).

Une bonne partie de ces $>C-OH$ doivent participer de cycles O-dihydroxylés ou P-dihydroxylés.

- Entre 40 et 45 % des fonctions oxygénées sont du type O-alkyle. Il s'agit pour l'essentiel, de groupements -OH alcooliques et d'alkyl ethers.

Cette proportion est légèrement plus élevée qu'en A_0.

+ Dans la fraction intermédiaire de l'Humine résiduelle de l'horizon A_0 la proportion de carbones oxygénés participant de groupements carboxyles se situe entre 31 et 35 %.

Elle est sensiblement plus élevée que dans la fraction fine.

Comme dans la fraction grossière une proportion non négligeable de $-C<^{O}_{O-}$ doivent participer de groupements esters.

- La proportion de groupements oxygénés, autres que carboxyles, liés aux

unités aromatiques est de l'ordre de 18 à 20 %, comme dans la fraction grossière.

- La part des groupements quinoïdes est relativement réduite. Elle devient beaucoup plus marquée dans la fraction intermédiaire de l'échantillon provenant de l'horizon A_1.

Composants aliphatiques

- Les motifs polymethyléniques peu ou non ramifiés prennent une part significative dans le schéma structural de l'ensemble des fractions (> 0,5 μ) de l'Humine résiduelle de l'horizon A_0.

- Leur importance relative est nettement plus marquée dans le matériau fin (5 μ > > 0,5 μ) que dans les éléments figurés.

Le pourcentage d'aire du massif A est respectivement

. de 34 % sur le spectre de la fraction grossière

. de 35,5 % sur le spectre de la fraction intermédiaire

. de 46 % sur le spectre de la fraction fine.

Sur le spectre de la fraction grossière le rapport de l'amplitude de la bande (-3-), par rapport à la lignine de base, à la hauteur moyenne du massif de résonances basal (entre 20 et 50 ppm) se situe entre 0,30 et 0,35. Il dépasse 0,57 sur le spectre de la fraction fine.

N.B. : Dans les trois cas les signaux des $-CH_2-$ et $-CH<$ participant de chaines polypeptidiques ne contribuent que pour une part négligeable au massif basal du domaine A (Le rapport C/N étant dans tous les cas supérieur à 50).

- Sur le spectre de la fraction (< 0,5 μ) la bande (-3-) est encore bien marquée.

La proportion de carbones participant de groupements $-(CH_2)_n-$ (n > 4) est cependant nettement plus réduite que dans la fraction (5 μ > > 0,5 μ).

- Dans la fraction d'Humine résiduelle de l'horizon A_1 ces groupements prennent une part globalement moins importante dans le schéma structural que dans les fractions correspondantes de l'échantillon de surface.

Cette différence n'est qu'en partie due au fait que le taux d'aromaticité augmente notablement en A_1.

La part des $-(CH_2)_n-$, relativement aux autres types de groupements et motifs qui contribuent aux résonances du domaine A, diminue significativement quand on s'éloigne de la surface, surtout dans la fraction intermédiaire.

— Cette observation tend à conforter l'hypothèse selon laquelle une partie des constituants de type paraffinique provenant du matériau végétal doit être rapidement dégradée (biooxydation) dans les sols [3,83].

- Sur les spectres (CXP 100) des fractions de l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 (voir figure 48) les deux composantes de la bande des $-(CH_2)_n-$, (-3'-) centrée autour de 29-30 ppm et (-3"-) centrée autour de 34 ppm, sont bien différentiées.

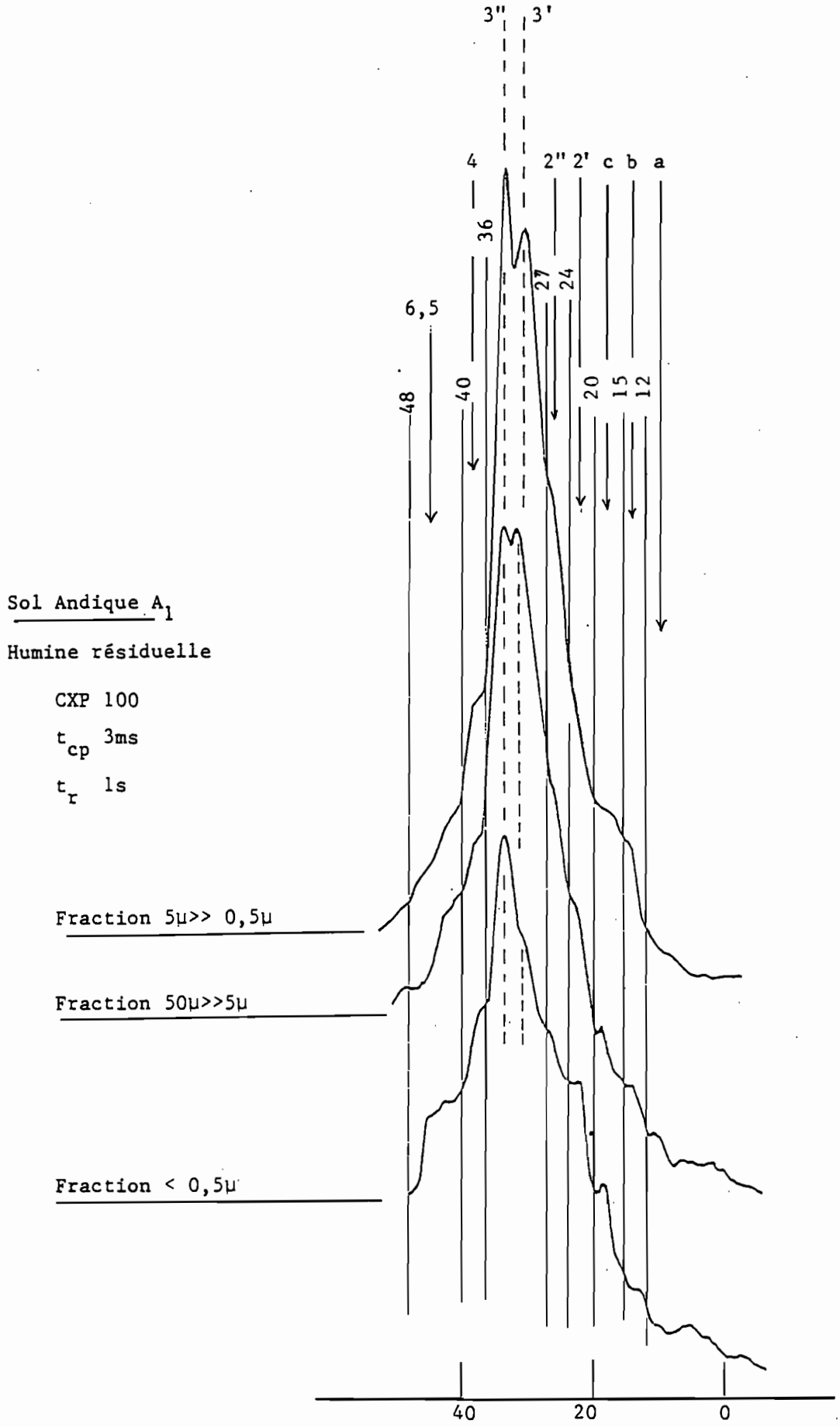

3''
3'
4
2''
2'
c
b
a
36
27
24
6,5
48
40
20
15
12
Sol Andique A_1
Humine résiduelle
CXP 100
t_{cp} 3ms
t_r 1s
Fraction 5µ>> 0,5µ
Fraction 50µ>>5µ
Fraction < 0,5µ
40
20
0

Figure 48.

La composante (-3"-), qui est sensiblement moins large que (-3'-) et que nous attribuons à des motifs répétitifs de conformation régulière (-groupements n alkyle à longue chaine-) est plus marquée, relativement sur les spectres des fractions fines.

Remarque : Après un déphasage dipolaire court (25 µs) les signaux de la composante (-3"-) sont beaucoup plus fortement atténués que ceux de la composante (-3'-). Les groupements $-CH_2-$ doivent présenter une mobilité relativement plus réduite dans les motifs qui contribuent à la composante (-3"-) que dans ceux qui contribuent à la composante (-3'-).

—> Les constituants paraffiniques non ramifiés à longue chaine se "concentrent" relativement dans la fraction fine (5 µ > > 0,5 µ).

Ils doivent être incorporés dans les micelles et microagrégats du matériau Humique (liés ou simplement associés aux macromolécules Humiques) ce qui a pour effet de les soustraire à la biodégradation. On n'en retrouve qu'une proportion relativement réduite dans la fraction (< 0,5 µ) .

- Les signaux les plus marqués de l'épaulement (-1-) se situent dans la bande $15 < \delta < 20$ ppm (c). Ils doivent correspondre, pour l'essentiel,

. à des $-CH_3$ en iso d'un groupement methine : isoalcanes et motifs isoprenoïdes (les signaux des $-CH_2-$ en α et β du groupement $-CH(CH_3)-$ contribuent respectivement aux épaulements (-4-) et (-2'-), les -CH- à la bande (-3'-)) ou d'un carbone sp^2 oléfinique (chaines polyterpeniques),

. aux $-CH_3$ terminaux des groupements ethyle et propyle portés par des noyaux aromatiques (les $-CH_2-$ de groupements contribuent à l'épaulement (-2"-)).

- Les motifs isoprenoïdes prennent une part appréciable dans le schéma structural des différentes fractions de l'Humine résiduelle. Ces unités dérivent soit des tissus folliaires ("chaines latérales" de la chlorophylle-phytols) soit de la biomasse microbienne (lipides d'origine microbienne).

L'analyse comparative des spectres de la figure (48) montre que c'est dans la fraction < 0,5 µ que cette part est la plus marquée. Il doit s'agir ici pour l'essentiel d'éléments structuraux de lipides microbiens. Cette fraction est nettement plus riche en azote que les autres (Son C/N est de l'ordre de 20). Elle correspond en grande partie à de l'Humine microbienne.

Dans les autres fractions leur importance relative augmente significativement quand on passe de A_0 en A_1 -Les chaines isoprenoïdes présentant une résistance nettement plus élevée à la biodégradation que les chaines paraffiniques non ramifiés-

- Les signaux des $-CH_3$ terminaux des groupements $-(CH_2)_n-$ (n > 4) se situent pour l'essentiel dans la bande $12 < \delta < 15$ ppm (b).

- L'épaulement (-2"-) doit correspondre, pour partie au moins, aux $-CH_2-$ de "chaines latérales" courtes du type ethyle ou propyle.

Il est plus marqué relativement sur les spectres de la fraction fine (c'est dans cette fraction que la proportion des Csp^2 alkyle substitués est la plus élevée).

En résumé

- Dans le cas du Podzol et du sol Andique la moitié du carbone organique de l'Humine n'est pas extrait par les différents réactifs minéraux et se retrouve dans l'Humine résiduelle.

—> La composition biochimique de cette dernière n'est pas la même dans les deux sols.

Dans l'Humine résiduelle du Podzol on retrouve une proportion importante de matériaux hérités (lignine, tannins, polysaccharides) partiellement transformés.

Dans l'Humine résiduelle du sol Andique ce sont les constituants néoformés (Humine d'insolubilisation) qui prennent une part prépondérante dans le schéma structural, même dans l'échantillon de surface.

- Dans ce sol le pourcentage du carbone "non extractible" augmente significativement au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la surface (dans l'horizon A_1), c'est-à-dire avec le degré d'évolution de la matière organique.

Ceci confirme l'importance que doivent prendre ici les processus d'insolubilisation.

- Dans la Rendzine où, comme dans le Podzol (mais pour des raisons différentes) l'Humine héritée devrait prendre une part prépondérante dans le "spectre biochimique" [28], moins de 25 % du carbone de l'Humine se retrouvent dans le "résidu non extractible".

Une fraction appréciable des constituants de ce dernier participent ou dérivent ici de la biomasse microbienne (Humine microbienne) alors que dans le Podzol cette dernière ne joue qu'un rôle négligeable.

—> La proportion de constituants hérités "insolubles" est nettement plus réduite dans la Rendzine que dans le Podzol et la nature des produits hérités doit différer quelque peu dans les deux cas.

. Le matériau primaire (litière de feuillus) dont dérive l'Humine de la Rendzine est globalement moins riche en lignine et en constituants paraffiniques non ramifiés à longue chaine (lipides) que celui dont dérive le Mor du Podzol (litière de résineux et d'Ericacées).

La différence ne doit cependant pas venir uniquement de là.

. Une proportion importante du matériau aromatique dérivant des litières de feuillus (de Hètre notamment, comme c'est le cas ici) serait en fait constitué de "produits bruns" (complexes polyphénol-protéine) qui se forment et s'accumulent dans les tissus folliaires en voie de senescence [129, 130]. Ces composés qui sont relativement résistants à la biodégradation doivent persister dans le sol (surtout s'ils sont protégés par des coatings de carbonate) et contribuent à l'Humine héritée.

. Ils doivent être en grande partie hydrolysés et "solubilisés" par le traitement HCl à chaud. Dans le cas de la Rendzine les proportions de carbones sp^2 qu'on

retrouve dans l'Hydrolysat acide sont près de 4 à 5 fois plus importantes que dans le cas du Podzol.

- Dans ce dernier les tannins condensés (qu'on retrouve en teneurs non négligeables dans les litières acidifiantes) ne doivent pratiquement pas être hydrolysés et se retrouvent en grande partie dans le résidu "insoluble".

—> Les processus de néoformation doivent prendre une part plus marquée dans la Rendzine que dans le Podzol. La proportion de constituants alcalinosolubles (Humines de précipitation) est deux fois plus importante dans la première (en pourcentage du C total de l'Humine).

N.B. : Le rapport signal/bruit étant trop réduit il n'est pas possible à partir des spectres RMN ^{13}C de la Rendzine de se faire une idée de l'importance de la part que doivent prendre les constituants néoformés non alcalinosolubles (Humine d'insolubilisation) dans l'Humine résiduelle.

- L'Humine résiduelle du sol Andique a été scindée en quatre fractions en fonction de la taille et de la vitesse de sédimentation des particules.

. Les agrégats organominéraux sont en grande partie dissociés par les traitements acides et sodiques successifs (qui provoquent une décationisation et "solubilisent" les ciments minéraux et Humiques).

— Dans le résidu "non extractible" la matière organique se présente

. dans la fraction grossière (> 50 µ) sous la forme de particules figurées (débris végétaux organisés) de teinte foncée, de densité relativement faible non liés à la matière minérale,

. dans la fraction fine (5 µ > > 0,5 µ, argileuse et colloïdale) sous la forme de microagrégats ne présentant pas de structure organisée, de densité nettement plus élevée que les particules grossières et dans lesquels la cohésion entre les différents constituants est assurée, pour l'essentiel, par des ponts Hydrogènes.

- Dans la fraction grossière on retrouve en majorité des constituants hérités alors que les constituants néoformés se "concentrent" dans la fraction fine.

—> Ces deux types de constituants présentent un certain nombre de différences structurales significatives.

- Dans le domaine aromatique

. Le taux d'hétérosubstitution des carbones sp^2 est nettement plus réduit dans les constituants néoformés (où une proportion notable des cycles ne doivent pas porter d'hétéroatomes) que dans le matériau hérité,

. Le degré de condensation et de réticulation des composants aromatiques, est plus important dans les premiers.

La réticulation se fait ici en grande partie par l'intermédiaire de liaisons C-C (liaisons $>C-C<$ directes entre noyaux, liaisons par l'intermédiaire de ponts alkyliques). Les ponts $>C-O-C<$, $>C-O-CH<$ (qui jouent un rôle essentiel dans la lignine) ainsi que les ponts $>C-NH-C<$ et $>C=N-C<$ ne doivent prendre qu'une part

relativement réduite, du moins dans l'Humine résiduelle.

. Sur le spectre de la fraction fine les signaux de la bande $122 < \delta < 130$ ppm sont nettement plus marqués, relativement aux autres groupes de signaux du domaine ($90 < \delta < 162$ ppm), que sur celui de la fraction grossière.

— Le renforcement relatif des résonances dans ce domaine de δ, conséquence

. de la diminution du taux d'hétérosubstitution et de l'apparition de groupements $\geqslant$ C-COOH(ou R)

. de l'augmentation du degré de condensation et de réticulation

peut être considéré, en quelque sorte, comme l'empreinte spectrale de la présence de constituants néoformés.

- Le taux de fonctionalisation oxycarboné des constituants hérités est ici plus élevé que celui des constituants néoformés.

Il approche de 30 % dans l'Humine résiduelle du Podzol et dans la fraction grossière de l'Humine résiduelle du sol Andique. Il se situe autour de 20 % dans la fraction fine de l'Humine résiduelle du sol Andique.

- La composition fonctionnelle diffère quelque peu dans les deux types de constituants.

- Les -COOH prennent une part plus marquée dans le schéma fonctionnel de l'Humine d'insolubilisation que dans celui des constituants hérités. Dans ces derniers on retrouve une proportion, relativement, plus élevée de groupements esters.

- Dans le sol Andique l'acidité carboxylique du matériau néoformé augmente quand on s'éloigne de la surface -elle passe de 2 à 4 % (en pourcentage du C total) en A_0 à 5 à 7 % en A_1-

Cette augmentation est à mettre en parallèle avec celle du taux d'aromaticité. Une bonne partie de ces groupements -COOH devant être associés aux unités structurales aromatiques.

- La proportion de groupements oxygénés, autres que carboxyles, associés aux unités structurales aromatiques est nettement plus faible dans les constituants néoformés que dans le matériau hérité.

- En A_0 le taux de fonctionalisation global de la fraction fine de l'Humine résiduelle est nettement moins élevé que celui de l'Humine de précipitation correspondante (17 à 20 % contre 27 à 30 %).

En A_1 ils sont par contre très voisins (19 à 22 % contre 17 à 20 %). Par ailleurs, la proportion des carbones sp^2 portant un groupement hétéroatomique "actif" (-OH ou -COOH) ne doit pas différer notablement dans les deux fractions.

Dans tous les cas on retrouve des teneurs beaucoup plus élevées d'azote peptidique dans l'Humine de précipitation que dans l'Humine résiduelle.

- Dans l'horizon de surface c'est la diminution de la fonctionalisation et la perte des chaines peptidiques latérales du nucleus qui doivent être à l'origine de "l'insolubilisation" des constituants (néoformés) qu'on retrouve dans la fraction fine de l'Humine résiduelle.

Le degré de condensation des motifs aromatiques ne devrait pas encore être très important ici.

En A_1 où les taux de fonctionalisation oxycarbonés des constituants de l'Humine de précipitation et de l'Humine d'insolubilisation ne diffèrent pas significativement c'est le degré de condensation et la taille du nucleus ainsi que la perte des chaines latérales peptidiques qui doivent être les facteurs déterminants.

Cette "insolubilisation" doit être en grande partie le fait de modifications physicochimiques intervenues dans le sol et de la biodégradation (disparition des chaines peptidiques) et non une conséquence des traitements mis en oeuvre.

Les constituants qu'on retrouve dans l'Humine de précipitation ayant subi la même succession de traitements acides que ceux qui forment l'Humine d'insolubilisation.

⟶ On notera encore que la teneur en groupements quinoniques, ainsi que la teneur en groupement aldehyde et cétones augmentent significativement quand on passe de A_0 en A_1, ceci dans l'ensemble des fractions.

- Dans l'Humine résiduelle du Podzol et dans les éléments figurés de l'Humine résiduelle de l'échantillon de surface du sol Andique on retrouve des quantités non négligeables de polysaccharides (plus de 5 % du C total).

Il doit s'agir en grande partie de cellulose présentant un certain degré d'organisation (microfibrilles).

Dans les particules figurées qu'on retrouve dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 la cellulose n'est pratiquement plus décelable.

On retrouve par contre une faible proportion de polysaccharides dans la fraction fine. Ils doivent être incorporés dans les micelles de l'Humine d'insolubilisation ce qui a eu pour effet de les soustraire à la biodégradation.

- En comparant les spectres des fractions dans lesquelles les constituants hérités doivent prendre une part prépondérante (Humine résiduelle du Podzol, fraction grossière de l'Humine résiduelle du sol Andique) à celui de la matière organique fraiche on peut obtenir des indications sur la nature des transformations structurales que subissent ces constituants dans le sol.

Ainsi dans le cas de la lignine

. Les ponts aryl-alkyl ether qui relient entre elles les unités guaiacyle ou syringyle sont, en partie conservés.

. Une proportion notable des groupements aryl-methoxyls sont remplacés par des groupements ou liaisons qui exercent (par rapport à $-OCH_3$) un effet déblindant sur le carbone sp^2 de la liaison $\geqslant C-O-CH<$, en ortho, donc par des groupements autres qu'hydroxyles. Des -COOH notamment.

. De nouvelles liaisons C-C apparaissent entre les unités structurales aromatiques (soit entre carbones hydroxyles soit entre carbones protonés). Le degré de réticulation augmente.

- Les motifs polymethyléniques peu ou non ramifiés prennent une part significative dans la structure de l'Humine résiduelle du sol Andique.

—— Dans cette dernière la proportion de carbones participant de groupements $-(CH_2)_n-$ ($n > 4$) est nettement plus élevée dans la fraction fine, où prédominent les constituants hérités et où on devrait à priori retrouver des proportions plus importantes de lipides saturés à longue chaine.

Elle diminue significativement, dans l'ensemble des fractions, quand on s'éloigne de la surface.

—— Dans l'Humine résiduelle du Podzol ces groupements prennent une part sensiblement moins importante dans le schéma structural que dans l'Humine résiduelle de l'horizon A_1 du sol Andique (moins de 10 % du carbone total dans le cas du Podzol contre 11 à 15 % dans le cas du sol Andique).

—— Leur importance relative est très réduite dans l'Humine résiduelle de la Rendzine. Dans cette dernière l'essentiel des groupements polymethyleniques de l'Humine se retrouvent dans la fraction non acidosoluble de l'Humine de précipitation.

- La bande des $-(CH_2)_n-$ se résoud en deux composante dont les sommets sont décalés, relativement, de 4 ppm et qui se différentient par ailleurs par leur largeur et l'atténuation plus ou moins marquée que subissent les signaux correspondants après un déphasage dipolaire de courte durée (< 25 µs).

La composante la mieux définie (c'est-à-dire la moins large), centrée autour de 34 ppm est assignée à des motifs répétitifs, présentant un certain degré d'ordre moléculaire, dans lesquels la mobilité des groupements $-CH_2-$ doit être relativement réduite, tout au long de la chaine (ces groupements déphasent rapidement)

- n alcanes, acides gras et alcools à longue chaine (et leurs esters -acides-)-

L'autre, centrée autour de 29 à 30 ppm, sensiblement plus large, devrait correspondre, en partie du moins, à des motifs à chaine plus courte présentant une plus grande diversité de configurations et de conformations moléculaires et dans lesquels une partie des $-CH_2)$ (ou $-CH(CH_3)-$) conservent une mobilité notable.

Le premier est plus marquée, relativement, sur les spectres de la fraction fine.

Les constituants paraffiniques à longue chaine se "concentrent" dans les micelles et microagrégats du matériau fin.

Ils peuvent être soit liés aux macromolécules (par l'intermédiaire de liaisons C-C, ether ou esters avec les unités structurales aromatiques du nucleus) et contribuent éventuellement à la réticulation, soit simplement adsorbés sur ces derniers ou séquestrés dans les espaces lacunaires de l'édifice polymoléculaire que contribuent les micelles.

C'est l'importance relative de la composante correspondant à ces constituants qui diminue sur les spectres des fractions provenant de l'horizon A_1.

Ces constituants doivent subir une dégradation (biooxydation) relativement rapide dans le sol ce qui a pour effet de réduire la longueur moyenne des chaines au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la surface.

- A côté des enchainements methyleniques peu ou non ramifiés les motifs isoprenoïdes provenant soit du matériau végétal soit des constituants de la biomasse microbienne (lipides membranaires) prennent une part appréciable dans le schéma structural des différentes fractions de l'Humine résiduelle.

Dans le cas du sol Andique c'est dans la fraction (< 0,5 μ) que leur importance relative est la plus marquée.

Dans cette fraction ce sont les matériaux relevant ou dérivant de la biomasse microbienne (Humine microbienne) qui doivent prendre une part prédominante. (La teneur en azote est ici nettement plus élevée que dans les autres fractions de l'Humine résiduelle).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1 Maximov O.B., Shvets T.V., Elkin Yu.N.
Géoderma 1977 - 19 - pp 63-78

2 Cane R.F.,
In Oil Shale (Yen T.F., Chilingarian G.V.) 1976 Ed. Elsevier, pp 27-60

3 Sheffer F., Ulrich B.
In Hümus und Hümusdüngung, Teil III, Band I, 1960, Ferd. Enke Verlag pp 58-62

4 Worobey B.L., Webster G.R.B.
Nature 1981 - 292 - pp 527-529

5 Swift R.S., Posner A.M.
J. of Soil Science 1972 - 23 - PP 381-393

6 Ceccanti B., Nannipievi P., Cervelli S., Signi P.
Soil Biochem 1978 - 10 - p.39

7 Konnonova M.M., Alexandrova I.Va.
Geoderma 1973 - 9 - pp. 157 - 164

8 Vila F.J., Lentz H., Lüdemann H.
Biochem and Biophys. Research Comm. 1976 72 - p. 1063-1069

9 Stuermer D.H., Payne J.R.
Geochimica & Cosmochimica Acta 1976 - 40 - pp. 1109-1114

10 Wilson M.A., Goh. K.M.
Plant and Soil 1977 - 11 - pp 105-108

11 Wilson M.A., Goh K.M.
J. of Soil Sci. 1977 - 28 - pp 645-652

12 Wilson M.A., Jones A.J., Williamson B.
Nature 1978 - 276 - pp 487-489

13 Ruggiero P., Interesse F.S., Sciacovelli O.
Geochimica & Cosmochimica Acta 1979 - 43 - pp 1771-1775

14 Hatcher P.G., Rowan R., Mattingly M.A.
Organic Geochem. 1980 - 2 - pp 77-85

15 Preston C.M., Schnitzer M.
Soil Sci. Soc. Am. J. 1984- 48 - pp 305-311

16 Orgner G.
Soil Biology and Biochem 1979 - 11 - pp 105-108

17 Newman R.H., Tate K.R., Barron P.F., Wilson M.A.
J. of Soil Sci. 1980 - 31 - pp 623-632

18 Dereppe J.M., Moreaux C., Debyser Y.
Organic Geochem. 1980 - 2 - pp 117-124

19 Saito Y., Hayano S.
J. of the Oceanograph. Soc. Japan 1981 - 36 - pp 286-292

20 Barron P.F., Wilson M.A.
Nature 1981 - 289 - pp 275-276

21 Wilson M.A., Barron P.F., Goh K.M.
Geoderma 1981 - 26 - pp 323-327

22 Wilson M.A., Pugmire R.J., Zilm K.W., Goh K.M., Heng S., Grant D.M.
Nature 1981 - 294 - pp 648-650

23 Preston C.M., Ripmeester J.A.
Canad. J. of Spectroscopy 1982 - 4 - pp 99-105

24 Bayer E., Albert K., Bergmann W., Jahns K., Eisener W., Peters H.K.
Angew. Chem. 1984 - 96(2) - pp 151-153

25 Wilson M.A., Heng S., Goh K.M., Pugmire R.J., Grant D.M.
J. of Soil Science 1983 - 34 - pp 83-97

26 Hatcher P.G., Vander Hart D.L., Earl W.L.
Organic Geochem. 1980 - 2 - pp. 87-92

27 Hatcher P.G., Maciel G.E., Dennis L.W.
Organic Geochemistry 1981 - 3 - pp 43-48

28 Duchaufour P.
In Pedologie 1. Pedogénèse et Classification, 2e édit. Masson (édit.)
1983 p 31

29 Nansé G.
Rapport d'ATP (Matières Organiques dans les Sols)

30 Abraham R.J., Loftus P.
In Proton and ^{13}C NMR Spectroscopy - An Integrated Approach (Heyden Ed. London)
1978

31 Breitmaier E., Voelter
In ^{13}C NMR Spectroscopy - Monographs in Modern Chemistry 1978, Vol. 15, 2e Edit.
HF Ebel (Edit) Verlag Chemie Weinheim pp 247-260

32 Pfeffer P.E., Gerasimowicz W.V., Piotrowski E.
Anal. Chem. 1984 - 56 - pp 734-741

33 Haw J.F., Maciel G.E., Schroeder H.A.
Anal. Chem. 1984 - 56 - pp 1323-1329

34 Saleh F.Y., CHang D.Y.
Anal.Chem. 1983 - 55 pp 862-866

35 Snape C.E., Ladner W.R., Bartle K.D.
Anal. Chem. 1979 - 51(13) - pp 2189-2198

36 Yoshida T., MaeKawa Y., Teruaki F.
Anal Chem. 1983 - 55 - pp 388-391

37 Alemany L.B., Grant D.M., Pugmire R.J., Stock L.M.
Fuel 1984 - 63 - pp (13-521

38 Painter P.C., Kuehn D.W., Starsinic D.M., Davis A., Havens J.R., Koenig J.L.
Fuel 1983 - 62 - pp 103-111

39 Hatcher P.G., Breger I.A., Szeverenyi N., Maciel G.E.
Organic Geochemistry 1982 - 4 - p.9

40 Verheyen T.V., Johns R.B., Blackburn D.T.
Geochim. Cosmochim. Acta 1982 - 46 - p 269

41 Hammond T.E., Cory D.G., Ritchey W.H., Morita H.
Fuel 1985 - 64 - pp 1363-1366

42 Ohtsuka Y., Nozawa T., Tamita A., Tamai Y., Hatano M.
Fuel 1984 - 63 - pp 1363-1366

43 Ibarra J.V., Juan R.
Fuel 1985 - 64 - pp 650-656

44 Vassallo A.M.
Fuel 1984 - 63 - pp 1236-1240

45 Kalinowski H.O., Berger S., Braun S.
in ^{13}C NMR Spectroskopie 1984 - Georg Thieme Verlag Stuttgart - New-York

46 Breitmaier E., Jung G., Voelter W.
Angew. Chem. 1971 - 83 - 17/18 - pp 661-670

47 Lippmaa E.T., Alla M.A., Pehk T.J., Engelhardt G.
J. of Amer. Chem. Soc. 1978 - 100 - pp 1929-1931

48 Earl W.L., Vander Hart D.L.
Macromolecules 1979 - 12 - pp 762-767

49 Ganapathy S., Naito A., Mc Dowell C.A.
J. Am. Chem. Soc. 1981 - 103 - pp 6011-6015

50 Maciel G.E., O'Donnel D.J., Ackerman J.J.H., Hawkins B.H., Bartuska V.J.
Makromol. Chem. 1981 - 182 - pp 2297

51 Martin J.P., Haider K., Farmer W.J.
Soil Biol. Biochem. 1974 - 6 - pp 221-230

52 Chippendale A.M., Mathias A., Harris R.K., Packer K.J., Say B.J.
J. of Chem. Soc. Perkin Trans.II 1981 - pp 1031-1035

53 Erbatur G., Erbatur O., Davis M.F., Maciel G.E.
Fuel 1986 - 65 - pp 1265-1272

54 Alemany L.B., Grant D.M., Alger T.D., Pugmire R.J.
J. Am. Chem. Soc. 1983 - 105 - pp 6697-6704

55 Murphy P.D., Gerstein B.C., Weinberg V.L., Yen T.F.
Anal. Chem. 1982 - 54 - pp 522-525

56 Murphy P.D., Cassady T.J., Gerstein B.C.
Fuel 1982 - 61 - p 1233

57 Atalla R.H., Gast J.C., Sindorf D.W., Bartuska V.J., Maciel G.E.
J. Am. Chem. Soc. 1980 - 102:9 - pp 3249-3251

58 Hagaman E.W., Chambers R.R., Woody M.C.
Anal. Chem. 1986 - 58 - pp 387-394

59 Wilson M.A., Pugmire R.J., Karas J., Alemany L.B., Woolfenden W.R., Grant D.M.
Anal. Chem. 1984 - 56 - pp 933-943

60 Dudley R.L., Fyfe C.A.
Fuel 1982 - 61 - p 651

61 Balimann G.E., Groombridge C.J., Harris R.K., Packer K.J., Say B.J.,Tanner S.F.,
Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. A 1981 - 299 - pp 643-663

62 Woolfenden W.R., Grant D.M., Straight R.C., Englert E. Jr.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 1982 - 107 - pp 684-694

63 Fyfe C.A., Rudin A., Tchir W.
Macromolecules 1980 - 13 - pp 1320-1322

64 O'Donnel D.J., Ackerman J.J.H., Maciel G.E.
J. Agric. Food Chem. 1981 - 29 - pp 514-518

65 Chang C.J., Diaz L.E., Wollfenden W.R., Grant D.M.
J. Org. Chem. 1982 - 47 - pp 5318-5321

66 Havens J.R., Koenig J.L., Painter P.C.
Fuel 1982 - 61 - pp 393-396

67 Mikinis F.P., Sullivan M., Bartuska V.J., Maciel G.E.
Organ Geochem. 1981 - 3 - pp 19-28

68 Schaefer J., Sefcik M.D., Stejskal E.D., Mc Kay R.A.
Macromolecules 1981 - 14 - pp 188-192

69 Maciel G.E., Chuang I.S., Myers G.E.
Macromolecules 1982 - 15 - pp 1218-1220

70 Zumbulyadis N., Gysling M.J.
J. Am. Chem. Soc. 1982 - 104 - pp 3246-3247

71 Opella S.J., Frey M.H.
J. Am. Chem. Soc. 1979 - 101 - pp 5854-5856

72 Opella S.J., Frey M.H., Cross T.A.
J. Am . Chem. SOc. 1979 - 101 - pp 5856-5857

73 Anderson H.A., Russel J.D.
Nature 1976 - 260 - 597

74 Grant D.M., Paul E.G.
J. of Am. Chem. Soc. 1964 - 86 - pp 2984

75 Kolodziejki W., Frye J.S., Maciel G.E.
Anal Chem. 1982 - 54 - pp 1419

76 Hatcher P.G.
The origin, composition, chemical structure and diagenesis of humic substances, coals and kerogens as studied by nuclear magnetic resonance.
Ph. D. dissertation University of Maryland 1980 - P 283

77 Kennedy J.F., White C.A.
In Bioactive Carbohydrates : In Chemistry, Biochemistry and Biology
Ellis Horwood 1983, pp 150-172

78 Swincer G.D., Dades J.M., Greenland D
Australian J. Soil. Res. 1968 - 6 - PP 211-224

79 Forsyth W.G.C.
Biochem J. 1950 - 46 - pp 141-146

80 Thomas R.L., Mortensen J.L., Himes F.L.
Soil Sci. Soc. Am. Proc. 1967 - 31 - pp 568-570

81 Hodge J.E.
J. Agr. Food. Chem. 1953 - 1 - 928

82 Popoff T., Theander O.
Acta Chemica Scandinavica 1976 - B30 - pp 397-402

83 F. Andreux : Chap. VI. in Pedologie : 2 Constituants et propriétés du sol.
M. Bonneau et B. Souchier, Masson, 1979

84 Adler E., Lundquist K, Miksche G.E.
in Lignin Structure and Reactions, Advances in Chemistry Series 59
American Chem. Society Publications 1966 - 2 - pp 22 et suivantes
(The Structure and Reactivity of Lignin)

85 Fustec-Mathon E., Jacquesy R., Jambu P.
Abstr. IInd Intern. Cong. Ecology, Jerusalem, Israël, 1978 p 124

86 Jambu P., Fustec-Mathon E., Jacquesy R.
Sciences du Sol 1978 - 4 - pp 229-240

87 Freudenberg K., Neish A.C.
in Constitution and Biosynthesis of Lignin - 1968, Springer Verl.

88 Dabin B.
Cahiers ORSTOM - Podologie - Vol. XVII N° 34 1980-81 pp 197-215

89 Steelink C.
Geochim. & Csomochim. Acta 1964 - 28 - 10 - p 1615

90 Earl W.L., Vander Hart
J. of Am. Chem. Soc. 1980 - (102) - p. 3251

91 Dudley R.L. , Fyfe C.A., Stephenson P.J., Deslandes Y., Hamer G.,
Marchessault
J. of Am. Chem. Soc. 1983 - (105) - 2469

92 Earl W.L., Vander Hart D.L.
Marcromolecules 1981 - 15 - 570

93 Hall L.D., Yalpani M.
Carbohydr. Res. 1981 - 91 - C1

94 Saito M., Tabeta R.,
Chem. Lett. (Chem. Soc. Japan) 1981 - 713

95 Saito M., Tabeta R. Hirano S.
Chem. Lett. (Chem. Soc. Japan) 1981 - 1479

96 Fyfe C.A., Stephenson P.J., Marchersault R.H., Deslandes Y.
Macromolecules 1984 - 17 - 507

97 Bartuska V.J., Maciel G.E., Volken H.T.
Holzforschung, 1980 - 34 - 214

98 Maciel G.E., O'Donnell, Ackerman J.J.H., Hawtins R.L., Bartuska V.J.,
Makromol. Chem. 1981 - 182 - 2297

99 Flaig W
Contribution à la connaissance de la constitution et à la synthèse des acides humiqu
Sciences du Sol 1970 - 2 - 2 pp 39-72

100 Batistic L., Mayaudon J.
Plant and Soil, 1970 - 33 - pp 473-477

101 Morrison R.I.
J. of Soil Science 1963 - 14 - pp 201-216

102 Wildung R.E., Chester (G), Behmer D.E.
Plant and Soil, 1970 - 32 - pp 221-237

103 Steelink C., Berry J. Mo. A., Nordby M.
Sci. Pros. Roy. Dublin Soc., 1960 A-1- pp 59-67

104 SchnitzerM., Khan U.
In humic Substances in the environnement, 1972, Marcel Dekker Ed., New York

105 Chakrabarty S.K., Kretschmer H.O., Cherwonka S.
Soil Science 1974 - 117 (6) - pp 317-332

106 Cheshire M.V., Cranwell (P.A.), Falshauer C.P., Floyd A.J.
Tetrahedron 967 - 23 - pp. 1669-1682

107 Burges N.A., Hurst H.M., Walkden B.
Geochem. Cosmochem. Acta 1964 - 28 - pp 1547-1554

108 Filip Z., Haider K., Beutelspracher M.
Geoderma, 1974 - II (1) - pp 37-52

109 Vandenbroucke M.
in Kerogen Edit. Durand B., 1980, Editions Technip Paris, Chapitre 13 pp416-443

110 Rosenthal S.N., Fendler J.M.
Adv. Phys. Org. Chem., 1976 - 13 - 280

111 Colson P., Jennings H.J., Smith ICP
J. Am. Chem. Soc. 1974 - 96 - 8081

112 Voelter W., Jung G., Breitmeier E.
Aminosaüren - Peptiden, Z. Naturforsch. Teil B, 1971 - 26 - 213

113 Opella S.J., Hexem J.G., Frey M.H., Cross T.A.
Phil. Trans. Roy. Soc. London, 1981 - 7229 - 665

114 Buckwalter B.L.
Helv. Chim. Acta, 1975 - 58 - 1567

115 Pelletier S.W.
Can. J. Chem. 1979 - 57 - 1652

116 Blunt J.W., Stothers J.B.
Org. Magn. Reson. 1977 - 9 - 439

117 De Rosa M., De Rosa S., Gambacorta A.
Phytochemistry 1977 - 16 - pp 1909 - 1912

118 Alkem G.R., Mc Knight D.M., Wershaw R.L., Mac Carthy P.
Humic Substances in Soil Sediment and Water
1985 Wiley Interscience New York

119 Fyfe C.A.
in Solid State NMR for Chemists 1983 - C.F.C. Press, Guelph Ontario Canada

120 Haider K., Martin J.P.
Soil Science 1969-107 - pp 260-270

121 Nimz H.
Angew. Chem. 1974 -86-Na 9 pp 336-344

122 Hatfield G.R., Maciel G.E., Erbatur O., Erbatur G.
Anal Chem 1987 -59- pp 172-179

123 Hediger H.J.
in Methoden der Analyse in der Chemie Band II
INFRAROTSPEKTROSCOPIE Grundlagen, Anwendungen
Interpretation 1971 Akademische Verlagsg. Frankfurt am Main

124 Bellamy L.J.
in The Infra-Red Spectra of Complex Molecules. Vol I
III Edit 1975

126 Haider K
Zbl BakteriolParasitenKunde, Infektionskranh. Hyf.
1966 -128- pp 308-316

127 Haider K. Martin J.P.
Soil Sci Soc Amer Proc. 1967 -31- pp 766-772

128 Handley W.R.
Plant and Soil 1961 -15 (1)- pp 37-73

129 Toutain F., Brison M., Brun J.J., Janel Ph., Villemin G.
Migrationsorgano Minerales dans les Sols tempérés
Nancy 24-28 Septembre 1979 Edit. du CNRS

130 Mangenot F., TOutain F.
Les litières in "Ecologie Forestière"
Pesson Ed. Gauthier Villars Paris